



Universidad Politécnica de Cartagena

Departamento de Ciencia y Tecnología Agraria



**Sistema de depuración de aguas residuales
de origen ganadero. Humedales artificiales.**

Ana M^a Caballero Lajarín

2013



Universidad Politécnica de Cartagena
Departamento de Ciencia y
Tecnología Agraria



Grupo de Investigación Gestión,
Aprovechamiento y Recuperación de
Suelos y Aguas

Tesis doctoral

Sistema de depuración de aguas residuales de origen ganadero. Humedales artificiales.

Presentada por:

Ana M^a Caballero Lajarín

Director:

Dr. Ángel Faz Cano

Codirector:

Dr. Raúl Zornoza Belmonte

2013



**CONFORMIDAD DE SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE DEPÓSITO DE
TESIS DOCTORAL POR EL/LA DIRECTOR/A DE LA TESIS**

D. Ángel Faz Cano Director y D. Raúl Zornoza Belmonte Codirector de la Tesis doctoral
"Sistema de depuración de aguas residuales de origen ganadero. Humedales artificiales".

INFORMA:

Que la referida Tesis Doctoral, ha sido realizada por D^a. Ana M^a Caballero Lajarín, dando
mi conformidad para que sea presentada ante la Comisión de

Doctorado, para ser autorizado su depósito.

La rama de conocimiento por la que esta tesis ha sido desarrollada es:

- ☐ Ciencias
- ☐ Ciencias Sociales y Jurídicas
- ☒ Ingeniería y Arquitectura

En Cartagena, a 5 de abril de 2013

INVESTIGADOR

TESIS

EL CODIRECTOR DE LA TESIS

Fdo.: D. Raúl Zornoza Belmonte

COMISIÓN DE DOCTORADO



**CONFORMIDAD DE DEPÓSITO DE TESIS DOCTORAL
POR LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA**

D^a. M^a Dolores Gómez López miembro de la Comisión Académica del Programa Medio Ambiente y Minería Sostenible (RD 1393).

INFORMA:

Que la Tesis Doctoral titulada, "Sistema de depuración de aguas residuales de origen ganadero. Humedales artificiales", ha sido realizada por D^a. Ana M^a Caballero Lajarín, bajo la dirección y supervisión del Dr Ángel Faz Cano y Raúl Zornoza Belmonte.

En reunión de la Comisión Académica de fecha 3/4/13, visto que la mencionada tesis doctoral tiene acreditados los indicios de calidad, requeridos para el depósito de tesis doctorales, regulados en el artículo 32 del Reglamento de Estudios Oficiales de Máster y Doctorado de la UPCT, y la autorización del Director de la misma, se acordó dar la conformidad para que a dicha tesis le sea autorizado, por la Comisión de Doctorado, su depósito.

La Rama de conocimiento por la que esta tesis ha sido desarrollada es:

- ☐ Ciencias
- ☐ Ciencias Sociales y Jurídicas
- ☒ Ingeniería y Arquitectura

En Cartagena, a 5 de abril de 2013

MIEMBRO DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA

Fdo: María Dolores Gomez Lopez

COMISIÓN DE DOCTORADO

Agradecimientos

Quiero aprovechar esta ocasión para dirigir mi gratitud a las muchas personas que me han ofrecido su ayuda y apoyo para la presentación de esta tesis.

A mi director de Tesis, el Dr. Ángel Faz Cano, por haber depositado su confianza en mí y ofrecerme la oportunidad de realizar de este trabajo. ¡Gracias por proporcionarme las condiciones para aprender!

Al Ilustrísimo D. Juan Bautista Lobera Lössel, por ser uno de los pilares en el desarrollo de esta investigación, por su saber hacer y constancia digno de admiración. ¡Gracias por permitirme aprender de ti!

A mi codirector de Tesis Dr. Raúl Zornoza Belmonte, por ese don y capacidad de explicar las cosas difíciles y hacerlas fáciles, de forma cercana, humilde y con sentido del humor. ¡Gracias por aceptar ayudarme!

A la colaboración de mis compañeros de GARSA-UPCT Gerson Ramos Da Silva y Pablo Sánchez García en la puesta en marcha de los tratamientos en campo y toma de muestras. ¡Gracias por soportar junto con Juan Lobera y conmigo algunos días de calor, frío y viento, porque se hizo más ameno!

Al Dr. Alfredo Palop Gómez por enseñarme a realizar los análisis microbiológicos. A Francisco José Cifre Crespo por su colaboración en la realización de análisis microbiológicos de parte del conjunto de muestras, sirviendo para la presentación de su proyecto fin de carrera. Al Dr. Francisco Javier Gilabert Cervera y Sara Domínguez Oliver por su colaboración en el estudio de algas. A nuestro proveedor de reactivos y equipos de GARSA-UPCT, ¡Gracias Enrique por tu plena disposición y eficacia en tu trabajo!

De forma muy especial, quiero agradecer el apoyo recibido a lo largo de 6 años (2005-2011) de todos mis compañeros GARSAs: Dr. Ángeles Muñoz García, Dr. Andrea Zanuzzi Gotta, Dr. Jose Alberto Acosta Avilés, Dr. Silvia Martínez Martínez, Dr. Dora M^a Carmona Garcés, Dr. Ana Belén Olivares Martínez, Nuria Montiel Guardiola, Vicente Climent, Melisa Gómez Garrido, Jennifer Moreno Cornejo, Tania Terán Mita, Lola Estévez Rodríguez, Asuman Büyükkiliç Yanardag, Ibrahim Halil Yanardag, Sebla Kabas, Rosa M^a Rosales Aranda y Rafael Gallardo Quiles. En esta experiencia he conseguido buenos amigos.

Finalmente, quiero agradecer enormemente el apoyo que he tenido desde mi niñez de mis padres Ginés y Asunción, que con su esfuerzo me han dado la oportunidad de desarrollarme como persona. Y como no, de mis hermanos Juanjo, Mamen y Asun.

A mi marido Joaquín, por comprender y apoyar mis ilusiones y metas.

¡Gracias a todos!



Esta tesis se ha ejecutado en el marco de dos proyectos:

“Depuración de efluentes porcinos con macrófitos” financiado por la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Dirección General de Modernización de Explotaciones y Capacitación Agraria. (Referencia: CAyA 14_08). Investigador Principal: Ilmo. Juan Bautista Lobera Lössel.

“Biodepuración de purines de cerdo en humedales artificiales para su reutilización” financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. Dirección General de Investigación y Gestión del Plan Nacional de I+D+i. (Referencia: CTM 2007-65888). Investigador Principal: Dr. Ángel Faz Cano.

La producción científica aportada para la presentación de esta tesis ha sido una patente de invención con examen previo de la Oficina española de Patentes y Marcas. Autores: Ana M^a Caballero Lajarín, Ángel Faz Cano, Juan Bautista Lobera Lössel. Título: *“Humedal artificial y uso del mismo para la fitopurificación de efluentes líquidos”*. Fecha de publicación: 26/01/2012; Número de publicación: ES 2 363 363 B2.

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber”.

Albert Einstein (1879-1955).

Resumen

El sector porcino es de gran importancia a nivel nacional, destacando la Región de Murcia como una de las mayores productoras. La producción intensiva de cerdo ha dado lugar a la generación de grandes cantidades de purín caracterizado por su riqueza en nutrientes como nitrógeno y fósforo entre otros. La forma más natural de eliminación de los purines que se generan en las granjas, es la incorporación directa al suelo agrícola, según las necesidades del cultivo y en una proporción adecuada para evitar problemas de contaminación por eutrofización de las aguas. Por tanto, su uso como fertilizante está limitado porque no todos los ganaderos tienen tierras de cultivo próximas a las granjas. El alto contenido de agua en los purines encarece y dificulta su manejo y transporte a largas distancias en busca de tierras arables.

En esta tesis se propone un tratamiento de depuración de purines de cerdo como solución alternativa para aquellos ganaderos que no dispongan de suficientes tierras arables próximas. Concretamente se muestran los resultados de un estudio experimental que se llevó a cabo en el Centro Integrado de Formación y Experiencias Agrarias (CIFEA, Lorca) durante cinco años, donde el purín bruto procedente de una fosa subterránea de almacenamiento se sometió a la secuencia de un conjunto de tratamientos: separador de fases, aireación-espesador de fangos, decantación, humedales artificiales y balsa abierta de almacenamiento con microalgas. Además, se comprobó la eficiencia del uso de diferentes sustratos (una o dos capas de grava calcárea), el uso de diferentes densidades de plantación de *Phragmites australis* (0, 5 y 10 plantas/m²) y el uso de diferentes tiempos de retención hidráulica (1 semana-1 mes, 1-2 meses, 2-4 meses y >4 meses) en la remoción de contaminantes. Por último se ha evaluado si la estacionalidad o la longevidad del sistema influyen en la eficiencia de la depuración.

A diferencia de la mayoría de los humedales artificiales usados por otros investigadores, estos humedales artificiales tienen la particularidad de trabajar por lotes, no a flujo continuo, adaptándose a las características del purín y por ello el proceso fue patentado (UPCT-IMIDA).

La fase líquida depurada mediante el conjunto de tratamientos ha mostrado un descenso, en general, del 19% de la conductividad eléctrica, 89% de los sólidos totales en suspensión, 100% de los sólidos sedimentables, 90% de la demanda bioquímica de oxígeno en cinco días, 91% de la demanda química de oxígeno, 97% del fósforo total, 96% del cobre, 92% del zinc, 89% del nitrógeno total, 87% del nitrógeno amoniacal, 91% del nitrógeno orgánico, 21% del nitrato, 37% del bromuro, 4% del sulfato, 42% del calcio, 9% de las bacterias aerobias mesófilas, 78% de los

coliformes totales, 70% de los coliformes fecales, 75% de los estreptococos fecales, y 100% de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*. No obstante, se ha observado un aumento del 36% del potencial redox, y diferentes incrementos de algunos cationes como cloruros, sodio, potasio y magnesio. Los tratamientos de separación mecánica eliminaron mayoritariamente los sólidos totales en suspensión, los sólidos sedimentables, la demanda bioquímica de oxígeno en cinco días, la demanda química de oxígeno, el fósforo total, el cobre y el zinc. En los humedales principalmente se eliminaron sólidos totales en suspensión, sólidos sedimentables, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno, fósforo total, cobre, zinc, nitrógeno total, nitrógeno amoniacal, nitrógeno orgánico y microorganismos patógenos. El tratamiento de biorremediación por la acción de las microalgas, una de ellas identificada como *Scenedesmus sp*, eliminó cobre, zinc, nitrógeno total, nitrógeno amoniacal y fundamentalmente nitrato.

Los humedales artificiales con sustrato de una sola capa de grava y de mayor densidad de plantación presentaron una mayor eficiencia de depuración. Además, interesará trabajar a tiempos de retención de entre 1 semana y 1 mes ya que este tiempo favorece una mayor reducción del nitrógeno total en el efluente, siendo éste el parámetro más restrictivo por la legislación para el uso del efluente en irrigación. En primavera se observaron las mayores eficiencias de eliminación de la mayoría de parámetros analizados en el purín. Finalmente, estos humedales artificiales después de 5 años de operación aún siguen funcionando eficientemente sin problemas de obstrucción, mostrando elevadas eficiencias de eliminación en la mayoría de los parámetros analizados.

Abstract

Pork production is extremely important in Spain, highlighting Murcia Region which is one of the most important producers. The intensive pig production has generated high amounts of pig slurry, known to contain nutrients such as nitrogen and phosphorus among others. The natural way to treat pig slurry generated in farms is its application on agricultural soil according to the needs of crops and in a proper rate to avoid environmental problems such as eutrophication of water. Therefore, its use as fertilizer is limited because not all farmers have enough area of agricultural land near farms. Pig slurry has a high contain of water causing difficulties to manage and transport to long distances to apply to arable soil.

In this thesis a pig slurry treatment is proposed to give an alternative solution to those farmers who do not have enough near arable soil. Results of an experimental study developed in The Integrated Centre of Training and Agricultural Experiences (CIFEA, Lorca) for five years are shown. Raw pig slurry, stored in a concrete subterranean tank, was treated by a sequential group of treatments: Fan press screw separator, intermittent aeration process, sludge thickener with a rotor screen, sedimentation tank, constructed wetland and open storing pond with microalgae. It was assessed the pollutants removal efficiency of this group of treatments. In addition, it was tested the efficiency of the use of different substrates (one or two layers of calcareous gravel), different density of *Phragmites australis* (0, 5 y 10 plants/m²) and the use of different hydraulic retention times (1 week-1 month, 1-2 months, 2-4 months and >4 months) in contaminants removal efficiency. It was also assessed if seasonal variation and longevity of the system affect the purification efficiency.

With purpose to adapt to characteristics of pig slurry these constructed wetlands have worked in a particular way, by batch flow wastewater, instead of continue flow wastewater like most researchers. Because of this fact, this process was patented.

The proposed treatments have achieved decreases in the purified liquid phase by 19% for electrical conductivity, 89% for total suspended solids, 100% for settleable solids, 19% for total dissolved solids, 90% for biochemical oxygen demand, 91% for chemical oxygen demand, 97% for total phosphorus, 96% for copper, 92% for zinc, 89% for total nitrogen, 87% for ammoniacal nitrogen, 91% for organic nitrogen, 21% for nitrate, 37% for bromide, 4% for sulphate, 42% for calcium, 9% for aerobic mesophiles, 78% for total coliforms, 70% for fecal coliforms, 75% fecal streptococcus and 100% for *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli*. In addition it was observed an increase of redox potential (36%) and different increases for chloride, sodium, potassium and magnesium.

It was found that mechanical treatments removed mainly solids, biochemical oxygen demand, chemical oxygen demand, phosphorus, copper and zinc. Constructed wetlands removed mainly solids, biochemical oxygen demand, chemical oxygen demand, phosphorus, copper, zinc, total nitrogen, ammoniacal nitrogen, organic nitrogen and pathogenic microorganisms. Bioremediation treatment by microalgae, one of them identified as *Scenedesmus sp*, mainly removed copper, zinc, total nitrogen, ammoniacal nitrogen, organic nitrogen and nitrate.

It was found that constructed wetlands with one only calcareous gravel layer and constructed wetlands with the highest density of plants showed the highest pollutants removal efficiencies. Moreover, it was more efficient to work with hydraulic retention times between 1 week and 1 month because it achieved a higher nitrogen removal, being the most restrictive parameter for irrigation purposes according to regulation. In spring the highest removal efficiencies of most analyzed parameters in pig slurry were observed. And finally, these constructed wetlands still worked properly after 5 years of operation without clogging problems, showing high removal efficiencies in most analyzed physicochemical and microbiological parameters.

ÍNDICE.

I. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	1
II. INTRODUCCIÓN.	5
II.1. PRODUCCIÓN DE CERDO E IMPACTO AMBIENTAL.	7
II.2. GESTIÓN Y TRATAMIENTOS DE PURÍN DE CERDO.	21
II.3. HUMEDALES ARTIFICIALES.	35
II.3.1. Características generales de los humedales: ¿qué son?, ¿para qué sirven?, antecedentes y diseño.	37
II.3.2. Procesos de eliminación de contaminantes.	45
II.3.3. Potenciales metabólicos de los humedales artificiales.	47
II.3.4. Rutas alternativas de transformaciones de nitrógeno en los humedales.	48
II.3.5. Plantas acuáticas: hidrófitas.	51
II.3.6. Microbiología de los humedales artificiales: biofilm, la columna de Winogradsky y tapetes microbianos.	55
II.4. LEGISLACIÓN.	61
III. MATERIALES Y MÉTODOS.	69
III.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.	71
III.1.1. Localización y descripción geográfica.	73
III.1.2. Condiciones climáticas.	75
III.1.3. Recursos hidrográficos.	76
III.2. MATERIALES DEL SISTEMA DE DEPURACIÓN.	79
III.3. DISEÑO GRÁFICO.	89
III.4. FUNCIONAMIENTO Y MUESTREO.	93
III.5. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS.	99
III.5.1. Análisis físico-químicos.	101
III.5.2. Análisis microbiológicos.	111
III.5.3. Análisis de microalgas.	121
III.6. FACTORES EVALUADOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	127

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	133
IV.1. CARACTERÍSTICAS DEL PURÍN Y RELACIONES ENTRE PARÁMETROS.	134
IV.1.1. Características del purín bruto.	135
IV.1.2. Relaciones entre parámetros.	146
IV.2. EFICIENCIA DE REMOCIÓN DE CARGA CONTAMINANTE CONTENIDA EN PURINES DE CERDO MEDIANTE EL USO DE UN CONJUNTO DE TRATAMIENTOS EN SECUENCIA.	161
IV.2.1. Estudio de la eficiencia de los tratamientos.	163
IV.2.2. Evolución de los diferentes parámetros en la secuencia de tratamientos.	171
IV.3. EFECTO DE LOS FACTORES DE DISEÑO EN LA EFICIENCIA DE LA DEPURACIÓN DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES:	193
IV.3.1. Efecto del sustrato (una o dos capas de grava) en la eficiencia de la depuración de los humedales artificiales.	195
IV.3.2. Efecto de la densidad de <i>Phragmites australis</i> en la eficiencia de la depuración de los humedales artificiales.	203
IV.4. EFECTO DEL FACTOR DE OPERACIÓN EN LA EFICIENCIA DE LA DEPURACIÓN DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES: TIEMPO DE RETENCIÓN HIDRÁULICA (TRH).	221
IV.5. EFECTO CLIMÁTICO EN LA EFICIENCIA DE LA DEPURACIÓN DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES: ESTACIONES.	235
IV.6. EFECTO DE LA LONGEVIDAD EN LA EFICIENCIA DE LA DEPURACIÓN DE LOS HUMEDALES ARTIFICIALES.	251
V. CONCLUSIONES.	263
VI. REFERENCIAS.	269
VII. ANEXO FOTOGRÁFICO.	301

II. INTRODUCCIÓN

Tabla II.1. Cabezas cerdo entre los años 2006-2011.	9
Tabla II.2. Producción de purín de cerdo y superficie de cultivo en La Región de Murcia entre los años 2006-2011.	10
Tabla II.3. Excreción nitrogenada de diferentes tipos de ganado porcino y volumen de purines o estiércoles generados.	11
Tabla II.4. Procesos sobre el purín según el objetivo principal.	25

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Tabla III.1. Volumen de muestra necesario según el valor esperado de DBO_5 y correspondiente factor para el cálculo del resultado.	105
Tabla III.2. Concentraciones patrones de metales para la recta de calibrado.	108
Tabla III.3. Composición del medio BG-11.	121
Tabla III.4. Composición del medio 3N BBM+V (disolución 1+2).	122

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla IV.1.1. Características del purín bruto.	135
Tabla IV.1.2. Correlaciones bivariadas (valor de R) entre los parámetros analizados en el purín.	148
Tabla IV.1.3. Relaciones del purín encontradas en otros estudios.	151
Tabla IV.1.4. Regresiones lineales simples entre diferentes variables analizadas en el purín.	159
Tabla IV.2.1. Resultados de <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> y <i>Escherichia coli</i> obtenidos en el análisis de todas las muestras de purín bruto, tras la salida del efluente de los humedales artificiales y en la balsa de almacenamiento.	191
Tabla IV.5.1. Propiedades del purín a la entrada de los humedales en las diferentes estaciones.	237
Tabla IV.6.1. Propiedades del purín a la entrada de los humedales en los diferentes años.	253

II. INTRODUCCIÓN

Figura II.1.1. Zonas vulnerables a la contaminación por nitratos en La Región de Murcia.	13
---	----

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Figura III.1.1. Mapa de España.	73
Figura III.1.2. Localización de Lorca en la Región de Murcia.	73
Figura III.3.1. Diseño del sistema de depuración.	91
Figura III.4.1. Pasos que intervienen en el proceso flotación.	96

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura IV.1.1. Representación gráfica de las variables correlacionadas en purín mediante regresiones lineales: a) NT- CE); b) N-NH ₄ ⁺ - CE); c) Zn- PT); d) Zn- Cu. e) Na ⁺ - Cl ⁻); f) K ⁺ - Cl ⁻); g) K ⁺ - Na ⁺) y h) CF- CT).	153
Figura IV.2.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purín en los diferentes tratamientos.	174
Figura IV.2.2. Valores promedio de DQO, DBO ₅ , NT, N-NH ₄ ⁺ , NO, NO ₃ ⁻ , Cu y Zn de las muestras de purín en los diferentes tratamientos.	182
Figura IV.2.3. Valores promedio de aniones (Cl ⁻ , Br ⁻ y SO ₄ ⁻²) y cationes (Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² y Mg ⁺²) de las muestras de purín en los diferentes tratamientos.	186
Figura IV.2.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto, tras los humedales y en la balsa de almacenamiento.	190
Figura IV.3.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava.	196
Figura IV.3.2. Valores promedio de DQO, DBO ₅ , NT, N-NH ₄ ⁺ , NO, NO ₃ ⁻ , Cu y Zn de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava.	198
Figura IV.3.3. Valores promedio de aniones (Cl ⁻ , Br ⁻ y SO ₄ ⁻²) y cationes (Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺² y Mg ⁺²) de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava.	200
Figura IV.3.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava.	202
Figura IV.3.5. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta.	212
Figura IV.3.6. Valores promedio de DQO, DBO ₅ , NT, N-NH ₄ ⁺ , NO, NO ₃ ⁻ , Cu y Zn de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta.	214
Figura IV.3.7. Valores promedio de aniones (Cl ⁻ , Br ⁻ y SO ₄ ⁻²) y cationes (Na ⁺ , K ⁺ , Ca ⁺²	

y Mg^{+2}) de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta.	217
Figura IV.3.8. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta.	219
Figura IV.4.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales según el correspondiente tiempo de retención hidráulica.	224
Figura IV.4.2. Valores promedio de DQO, DBO_5 , NT, $N-NH_4^+$, NO, NO_3^- , Cu y Zn de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales según el correspondiente tiempo de retención hidráulica.	227
Figura IV.4.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales según el tiempo de retención hidráulica.	230
Figura IV.4.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto y de las muestras a la salida de los humedales según el correspondiente tiempo de retención hidráulico.	233
Figura IV.5.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, STD y PT de las muestras a la salida de los humedales en las distintas estaciones.	239
Figura IV.5.2. Valores promedio de DQO, DBO_5 , NT, $N-NH_4^+$, NO, NO_3^- , Cu y Zn de las muestras a la salida de los humedales en las distintas estaciones.	242
Figura IV.5.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) de las muestras a la salida de los humedales en las distintas estaciones.	246
Figura IV.5.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras a la salida de los humedales en las diferentes estaciones.	248
Figura IV.6.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, STD y PT de las muestras a la salida de los humedales, correspondientes a los distintos años.	255
Figura IV.6.2. Valores promedio de DQO, DBO_5 , NT, $N-NH_4^+$, NO, NO_3^- , Cu y Zn de las muestras a la salida de los humedales, correspondiente a los distintos años.	257
Figura IV.6.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) de las muestras a la salida de los humedales, correspondiente a los distintos años.	259
Figura IV.6.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras a la salida de Los humedales, correspondiente a los distintos años.	260

II. INTRODUCCIÓN

Fotos II.1-5. Evaluación y seguimiento del purín de las balsas en el subsuelo. Método de Tomografía Eléctrica.	18
Foto II.6. Ensayos de aplicación agronómica de purín en los terrenos próximos a una explotación ganadera de piensos ALIA, (Lorca).	19
Fotos II.7, 8 y 9. Limpieza de fosos. Explotación porcina de CEFU, SA, (Alhama de Murcia).	24
Fotos II.10 y 11. Aplicación de purín con cuba y agua de riego.	24
Foto II.12. Depuradora Aeropuerto Alicante.	42
Foto II.13. Depuradora Aeropuerto Vitoria.	42
Foto II.14. Planta experimental de Carrión de los Céspedes (Sevilla).	43
Foto II.15. Depuradora Barbadillo (Ávila).	43
Fotos II.16. a) Humedal artificial de flujo libre de agua superficial. b) Humedal artificial subsuperficial, (Fountoulakis et al., 2009).	43
Foto II.17. Humedal artificial (Vymazal, 2009c).	43
Foto II.18. Humedal artificial (Vymazal, 2011).	43
Foto II.19. Humedal artificial (Langergraber et al., 2009).	43
Foto II.20. 4 humedales en secuencia (Mustafa et al., 2009).	44
Foto II.21. Humedales artificiales de flujo subsuperficial (Akratos y Tsihrintzis, 2007).	44
Foto II.22. Humedales artificiales (Kotti et al., 2010).	44
Foto II.23 y 24. Humedales artificiales de flujo vertical (La Aljorra- UPCT) (Caballero-Lajarín et al., 2007).	44
Foto II.25. Macroalga (<i>Chara sp.</i>).	51
Foto II.26. Briófitas (<i>Ricciocarpus natans</i>).	51
Foto II.27. Helecho (<i>Azolla caroliniana</i>).	52
Foto II.28. Angiosperma (<i>Pontederia cordata</i>).	52
Foto II.29. <i>Egeria densa</i> .	54
Foto II.30. <i>Nymphoides indica</i> .	54
Foto II.31. <i>Pistia stratiotes</i> .	54
Foto II.32. <i>Schoenoplectus californicus</i> .	54
Foto II.33. Superficie de biofilms.	55

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Foto III.1. Ubicación de CIFE, (Tele Atlas Google, 2010).	74
Fotos III.2, 3 y 4. Variedad de cerdos. Foso subterráneo.	81
Fotos III.5, 6 y 7. Separador de fase de tornillo sinfín.	82
Fotos III.8, 9 y 10. Depósito 1 con discos de aireación.	83
Fotos III.11, 12, 13 y 14. Espesador de fangos.	83
Fotos III.15, 16 y 17. Limpieza de depósitos	84

Fotos III.18, 19 y 20. Depósito 2 y bomba.	84
Fotos III.21 y 22. Limpieza de espesador y Tuberías de conducción.	84
Fotos III.23-34. Excavación, impermeabilización, contador de agua, gavión, llaves de paso, testigo y plantación.	86
Fotos III.35, 36 y 37. Arqueta de recogida impermeabilizada y llave de vaciado.	86
Fotos III.38 y 39. Humedales artificiales y balsa.	87
Fotos III.40, 41, 42 y 43. <i>Phragmites australis</i> plantada en el humedal.	87
Fotos III.44, 45, 46 y 47. Balsa abierta de recogida de efluentes.	88
Foto III.48. Aspecto de las muestras A, B, C, D, J y K respectivamente.	98
Foto III.49. Coliformes fecales.	112
Foto III.50. <i>Escherichia Coli</i> .	113
Foto III.51. Estreptococos Fecales.	113
Fotos III.52 y 53. <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> en placa Petri en Agar XLD, respectivamente.	115
Foto III.54. Biorreactor de cultivo en continuo.	123
Foto III.55. Cultivos Batch.	123
Foto III.56. Inicio de alimentación de cultivo.	123
Foto III.57. Medición con célula fotoeléctrica.	124
Foto III.58. Cámara Thoma.	125
Foto III.59. Biorreactores con cultivos de <i>Anabaena</i> sp. y <i>Scenedesmus</i> sp., respectivamente.	125

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Foto IV.1. <i>Anabaena</i> sp.	169
Foto IV.2. Afloraciones de microalgas en la balsa de almacenamiento.	169
Foto IV.3. <i>Scenedesmus</i> sp.	170
Foto IV.4. <i>Anabaena</i> sp y <i>Scenedesmus</i> sp.	171
Foto IV.5. <i>Phragmites australis</i> .	214
Foto IV.6. Partes de la <i>Phragmites australis</i> .	214
Foto IV.7. <i>Sisymbrium irio</i> .	214
Foto IV.8. <i>Diplotaxis lagascana</i> .	215
Foto IV.9. <i>Sonchus oleraceus</i> .	215
Foto IV.10. <i>Sonchus tenerrimus</i> .	216
Foto IV.11. <i>Mesembryanthemum nodiflorum</i> .	216
Foto IV.12. <i>Diplotaxis erucoides</i> .	216
Foto IV.13. <i>Anacyclus clavatus</i> .	217
Foto IV.14. <i>Lamium amplexicaule</i> .	217
Foto IV.15. <i>Chenopodium murale</i> .	218
Foto IV.16. <i>Chenopodium álbum</i> .	218
Foto IV.17. <i>Conyza bonariensis</i> .	218
Foto IV.18. <i>Piptatherum miliaceum</i> .	219

VII. ANEXO FOTOGRÁFICO

Fotos VII.1 y 2. Conservación de muestras en frigoríficos.	303
Fotos VII.3 y 4. Equipo portátil HANNA Instrument modelo HI 9025. Medida de T, pH, Eh y CE en campo.	303
Fotos VII.5-10. Medida de STS. Bomba a vacío Vacuum Brand, balanza analítica modelo 4101, filtro Whatman 934-AH (0,45 µm), embudo Büchner, matraces Erlenmeyer, vidrios de reloj, estufa de secado y desecador.	303
Fotos VII.11 y 12. Medida SS en campo. Conos Imhoff.	304
Fotos VII.13 y 14. Medida de DBO ₅ . Botellas, encabezado e incubador.	304
Fotos VII.15 y 16. Medida de DQO, PT y NO ₃ ⁻ . Test nanocolor, termorreactor y fotómetro PF-11- Macherey- Nagel MN.	304
Foto VII.17. Destilador de agua.	305
Foto VII.18. Equipo de agua MilliQ.	305
Fotos VII.19 y 20. Reactivos y material de laboratorio.	305
Foto VII.21. Espectrofotómetro de absorción atómica de llama Modelo A-Analyst. Perkin Elmer.	305
Foto VII.22. Digestor de tubos Kjeldahl.	306
Foto VII.23. Termostato del digestor Kjeldahl.	306
Foto VII.24. Destilador de nitrógeno Büchi.	306
Foto VII.25. Preparación de muestras en tubos Kjeldahl.	306
Foto VII.26. Valorador Metrohm de nitrógeno.	306
Foto VII.27. Cromatógrafo iónico Metrohm.	306
Foto VII.28. Placas Petri y tubos de caldo BGBL	307
Foto VII.29. Autoclave.	307
Foto VII.30 y 31. Laboratorio de microbiología.	307

AM: Aerobios Mesófilos

CE: Conductividad eléctrica

CF: Coliformes Fecales

CT: Coliformes Totales

DBO₅: Demanda Bioquímica de Oxígeno en 5 días

DQO: Demanda Química de Oxígeno

EF: Estreptococos Fecales

Eh: Potencial redox

NO: Nitrógeno Orgánico

NT: Nitrógeno Total

pH: Potencial de Hidrógeno

PT: Fósforo Total

SS: Sólidos sedimentables

STD: Sólidos Totales Disueltos

STS: Sólidos Totales en Suspensión

T: Temperatura

TRH: Tiempo de Retención Hidráulica

I. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

A) Justificación: Problemática.

En el año 2011 la población mundial de cerdos fue de 963 millones de cabezas, de los que 187 millones se encontraban en Europa y 25 millones en España ([FAOSTAT, 2013](#)). En ese mismo año, en la Región de Murcia con un censo de 1.791.188 de cabezas de porcino ([Estadística Agraria Regional, CAA](#)), se produjeron unos 3.614.576 m³ de purín de cerdo (**Tabla II.2**), que según los cálculos realizados en esta tesis, equivalen a 16.446.321 kg de nitrógeno, estimando una riqueza media de 4,55 kg/m³ de nitrógeno total ([Lobera et al., 1998](#)).

De acuerdo con la [Directiva 91/676/CEE](#) en las zonas vulnerables el límite de aplicación de nitrógeno al suelo es de 170 kg/ha y año, para evitar riesgos de contaminación por nitratos, por tanto, la cantidad de superficie cultivable necesaria para aplicar este purín sería 96.743 ha. Por otro lado, la superficie de cultivo disponible en la Región de Murcia en ese año fue 550.948 ha ([Estadística Agraria Regional, CAA, 2013](#)), pero a pesar de este dato se ha de destacar que no todas estas tierras se encuentran lo suficientemente próximas a las granjas para que sea viable el transporte de purín generado, ni que el tipo de cultivo, o su fase productiva o la climatología del momento admita el uso de este subproducto.

Por lo tanto, el abonado mediante purines, que constituía una forma tradicional de eliminación controlada en tierras de cultivo, y que fomentaba el desarrollo sostenible de las dos actividades (ganadera y agrícola), ha pasado a transformarse, tras el gran desarrollo de una de ellas, en una acumulación incontrolada del exceso de residuos ganaderos en tierras, que pasan a ser vertederos, más que parcelas de cultivo, lo que ha hecho necesario el planteamiento de otros sistemas de gestión de purines, que se adecuen al grado de desarrollo actual de ambas actividades de forma ambientalmente correcta. Como consecuencia de ello, se podrían ocasionar graves problemas de contaminación por acumulación de nitratos en los acuíferos presentes en el subsuelo, o de los ríos y corrientes superficiales, por la lixiviación de estos compuestos, no fijados como nutrientes debido al actual exceso, y a las condiciones en que se encuentran. Además, debido a la mala praxis en la aplicación agrícola de este tipo de subproducto se añade el aumento de olores desagradables característicos de estos subproductos.

B) Hipótesis.

Debido a que actualmente, la gestión de los purines es muy problemática en instalaciones intensivas de ganado porcino, ya que su elevada generación no puede ser absorbida “*in situ*” para su aprovechamiento como abono, dado que no se dispone de extensión adecuada de tierra cultivable para absorber, de manera sostenible, la cantidad de amoníaco presente en los purines, se plantea como hipótesis que es posible realizar

una secuencia de tratamientos sobre el purín bruto para obtener un efluente depurado que permita la disminución de nitrógeno total en al menos un 50%, permitiendo determinar que la aplicación de esta tecnología es un tratamiento efectivo con el que se logra la disminución de contaminantes además de aprovechar y valorizar el purín bruto.

C) Objetivos generales.

Con la ejecución de este estudio, se pretende obtener resultados que demuestren la aplicabilidad de un procedimiento para la depuración de efluentes líquidos porcinos, mediante un sistema físico-químico y biológico combinado, adaptado a las necesidades de los ganaderos, de manera que éstos puedan replicar la experiencia en sus explotaciones y resolver la doble problemática originada por los purines de cerdo:

- por una parte, se contribuirá a paliar el impacto medioambiental causado por los purines de cerdo,
- y, por otra, se reutilizará a una importante parte de los purines, almacenados en las explotaciones, disminuyendo el coste de almacenamiento.

Por tanto, el objetivo general de esta experiencia es conseguir la depuración del purín de cerdo, para la obtención de un efluente apto tanto para la fertirrigación de diversos cultivos agrícolas, sin que provoque afecciones medioambientales, como para su uso como agua de lavado de las propias instalaciones ganaderas, permitiendo ahorrar grandes cantidades de agua potable que actualmente se usa a tal fin.

D) Objetivos específicos.

Los objetivos específicos son:

- Caracterizar el purín de cerdo y determinar algunas relaciones entre parámetros físico-químicos y microbiológicos.
- Determinar la capacidad de depuración que tiene cada uno de los tratamientos en secuencia del sistema de depuración estudiado: separador de fases, aireación-espesador de fangos, decantación, humedales artificiales y balsa de recogida con microalgas.
- Determinar si existen diferencias significativas de eficiencia de depuración en los humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal en función al:
 - Diseño de construcción de los humedales artificiales estudiados: capas de grava y densidad de plantación.
 - Factores de operación estudiados: tiempos de retención hidráulica.
 - Factores climatológicos: estaciones del año.
 - Madurez y transcurso del tiempo: longevidad.

II. INTRODUCCIÓN.

II.1. PRODUCCIÓN DE CERDO E IMPACTO AMBIENTAL.

El incremento de la producción porcina, debido a la demanda de este tipo de carne, ha provocado diversos cambios en los sistemas productivos de los principales países productores. La intensificación ganadera, reflejo claro de dicha demanda, ha sido una consecuencia que ha tenido lugar en los últimos años. Las tradicionales explotaciones porcinas de carácter extensivo se han visto sustituidas por explotaciones de gran tamaño y con un régimen productivo intensivo.

Tabla II.1. Cabezas cerdo entre los años 2006-2011.

Porcino (cabezas/año)	2006	2007	2008	2009	2010	2011
España	26.218.700	26.061.200	26.025.700	26.289.600	25.342.600	25.634.900
Europa	192.907.187	197.047.333	190.612.677	187.285.173	188.801.926	187.357.088
Mundo	924.402.031	917.049.647	934.920.944	955.947.976	967.616.390	963.044.187

Datos recopilados de [Faostat](#), (2013):

<http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>.

Si consideramos los datos del censo del último año (2011), vemos que la producción de cerdo en la Región de Murcia representó el 7% con respecto a la producción en España, el 1% con respecto a la de Europa y el 0,2% con respecto al Mundo. En España el ganado porcino, fue especialmente importante en tres Comunidades Autónomas, Cataluña (6.991.542 cabezas), Aragón (5.474.601 cabezas) y Castilla y León (3.606.620 cabezas). Como en años anteriores la suma de estas tres CCAA, representa más del 60% de la cabaña de porcino. En cuanto a número de cabezas le siguen, Andalucía (2.273.516 cabezas), Murcia (1.791.188 cabezas) y Castilla la Mancha (1.510.171 cabezas) con casi un 22% del total ([MAAMA](#), 2011).

Existen diferentes tipos de explotaciones porcinas y su producción de purines varía no solo en cantidad sino también en su composición ([Gómez-Garrido et al.](#), 2009).

Cebo: Son explotaciones compuestas por cerdos que están destinados exclusivamente a carne, favoreciendo su engorde. Se suele partir de lechones de aproximadamente 20 kg y se alcanzan los 100 kg, cuando parten a matadero. Su producción de purines es de 2,15 m³/año por animal según el [RD 324/2000](#).

Ciclo cerrado: Es un tipo de producción porcina donde se suceden todas las fases de la vida de los cerdos, es decir, hay madres, lechones y cerdos para engorde nacidos en la explotación. La producción de purines es de 17,75 m³/año por animal según el [RD 324/2000](#).

Madres: Son aquellas explotaciones compuestas por cerdas enfocadas a la producción de lechones, no encargándose del engorde de estos. Su producción de purines es de 6,12 m³/año por animal según el RD 324/2000.

Tabla II.2. Producción de purín de cerdo y superficie de cultivo en la Región de Murcia entre los años 2006-2011.

Región de Murcia	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Porcino (cabezas/año)	1.999.662	1.979.403	2.084.784	1.739.550	1.749.885	1.791.188
Purín (m³/año)	5.390.528	5.369.099	5.228.058	4.336.976	4.415.620	3.614.576
Relación (m³ purín/ cabeza)	2,7	2,7	2,5	2,5	2,5	2,0
Tierra de cultivo (Ha)	566.623	565.143	561.479	555.201	554.364	550.948
Superficie total (Ha)	1.131.398					

Nota. Datos de superficie y censo ([Estadística Agraria Región de Murcia, CAA, 2013](#)).
Producción de purín: elaboración propia.

[Lobera *et al.* \(1998\)](#) determinaron que los animales jóvenes producen un 6% de su peso en orina y heces, que cada cerdo reproductor produce un valor medio de purín de 7,75 m³/año y que cada cerdo de cebo produce 2,48 m³/año. Teniendo en cuenta estos datos y los datos de censo publicados por la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia en el documento de la cabaña ganadera por tipos de ganado, se ha realizado los cálculos oportunos para obtener las cantidades de purín generadas entre los años 2006-2011 (**Tabla II.2**). De estos resultados se obtuvo una relación entre el purín generado y las cabezas de cerdo más o menos constante en este intervalo de tiempo, resultando un valor medio de 2,5 m³/cabeza.

Para el porcino, la cantidad máxima de purín que podría ser incorporado anualmente al suelo, suponiendo un contenido medio de 4,5 kg N/m³ ([Lobera *et al.*, 1998](#)), varía entre 38 y 47 m³/ha. Considerando que la producción media de purines puede oscilar entre 3 y 7 m³ por cabeza, en el caso de querer incorporar todo el purín producido al suelo, la producción tendría que limitarse a 12 o 15 animales de engorde o bien 5 o 6 madres, por cada hectárea de suelo disponible. Si la explotación no dispone de la superficie requerida para ello, se impone la necesidad de reducir la permanencia de los animales en la explotación, lo que impediría completar el ciclo productivo, o bien depurar los purines producidos en la misma.

Tabla II.3. Excreción nitrogenada de diferentes tipos de ganado porcino y volumen de purines o estiércoles generados.

Tipos de ganado y fase productiva	kg N/plaza y año	Purín (m ³ /plaza y año)	Estiércol (t/plaza y año)	Densidad del estiércol (t/m ³)
Cerda con lechones hasta el destete (0-6 kg)	15	5,1	5,4	0,8
Cerda con lechones hasta 20 kg	18	6,12	-	-
Cerda de reposición	8,5	2,5	2,75	0,8
Lechones (6-20 kg)	1,19	0,41	0,6	0,8
Cerdo de engorde (20-50 kg)	6	1,8	-	-
Cerdo de engorde (50-100 kg)	8,5	2,5	-	-
Cerdo de engorde (20-100 kg)	7,25	2,15	2,4	0,8
Verraco	18	6,12	-	-

Fuente: www.gencat.net/darp/c/ramader/dejecram/dejec10.htm. Consultado por Teira *et al.*, (2006) el 10/11/06.

En la **Tabla II.2.**, se puede observar la problemática asociada a la gestión de los residuos orgánicos de origen ganadero, que se debe, básicamente, a la separación progresiva de la explotación ganadera y la agrícola, de forma que la mayoría de las explotaciones no poseen una base territorial suficiente para valorizar los residuos ganaderos. Por tanto, el aumento del censo ganadero, sobre todo el porcino, la disminución de la superficie agrícola útil, y el aumento de las dimensiones de las explotaciones ganaderas, hace equiparable el sector ganadero con la industria en cuanto a la problemática de gestión de residuos (Danés *et al.*, 1996).

La aplicación agrícola de los purines no se realiza únicamente sobre el suelo, sino en un agroecosistema. Esto implica que las actuaciones en un elemento del sistema repercuten en los otros elementos de éste. Si se desconocen o no se respetan los mecanismos de interacción entre las partes del sistema y sus capacidades de carga máxima, se manifiestan efectos negativos de estas actuaciones.

A) Impactos ambientales negativos de una mala gestión de purines

Las características más relevantes del purín respecto a su aplicación al suelo (aprovechamiento como fertilizante), son las siguientes (Teira *et al.*, 2006):

- Tiene una relación C/N baja, es decir, no fermenta aeróbicamente de forma espontánea o bien lo hace a baja intensidad (imperceptiblemente; se degrada

lentamente en condiciones anaeróbicas, más que fermentar), es un fertilizante que prácticamente no tiene valor orgánico sino valor mineral.

- La mayor parte del nitrógeno que contiene está presente en forma amoniacal.
- Tiene un pH básico, tamponado (por carbonatos, amoníaco y ácidos grasos volátiles), tiene una conductividad eléctrica elevada.
- Tiene un contenido de agua muy elevado.
- Contiene nutrientes secundarios, micronutrientes y metales pesados.
- También contiene microorganismos fecales y patógenos.

Una primera clasificación de los residuos se puede realizar en función de su origen, distinguiendo los residuos procedentes del sector primario, residuos agrícolas, ganaderos y forestales, los procedentes del sector secundario, residuos industriales (agroalimentarios, textiles, etc.) y finalmente los procedentes del sector terciario o de servicios, constituidos por residuos sólidos urbanos y lodos de estaciones depuradoras de aguas residuales (Pomares, 1998).

El sector agropecuario es el que genera la mayor fuente de residuos y de potencial contaminante en Europa, y dentro de éstos, los residuos ganaderos constituyen el principal problema ambiental (Hobson, 1990; Coppenet *et al.*, 1993; Babot *et al.*, 2001; Burton y Turner, 2003; Morel *et al.*, 2004). Además, resulta necesario afrontar el grave problema ambiental que supone la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas, procedente de fuentes agropecuarias (De la Flor *et al.*, 1996; Beline *et al.*, 2004).

Los residuos o subproductos ganaderos, en general, se pueden dividir en dos tipos. El primero, con un sustrato orgánico importante, formado por paja u otra base orgánica que se añade, constituye los estiércoles o "fiemos". El segundo tipo son los purines o estiércoles fluidos o líquidos, residuos procedentes de explotaciones que no utilizan "camas" y la limpieza de las excretas se realiza mediante agua (Orús *et al.*, 2000). Ambos tienen una composición muy similar pero difieren en la gran dilución que tienen los purines, ya que aproximadamente el 94% de su volumen es agua (Monge *et al.*, 2001).

En general, los residuos orgánicos con un contenido de materia seca superior al 15% se consideran estiércoles sólidos, mientras los que contienen entre un 15 y un 5% se denominan estiércoles líquidos y cuando este valor es inferior al 5% se habla de purín (Gracia, 2001).

La eliminación racional de los residuos ganaderos ocasiona no pocos problemas y es uno de los principales retos en los países productores (Turzo, 1998; Bigeriego, 1999; De la Torre, 1999). Entre los métodos propuestos, su aprovechamiento agrícola como

fertilizante es una de las fórmulas más correctas, siempre que se utilicen adecuadamente evitando dosis excesivas que provoquen la contaminación medioambiental.

Los principales impactos ambientales negativos de una inadecuada gestión de purines (Teira *et al.*, 2006) son:

- Contaminación de las aguas subterráneas por lixiviación de nitratos, (**Fig. II.1.1.**). El nitrato, al tener carga negativa no es retenido por los suelos a efectos prácticos y puede ser lavado por el flujo del agua en el suelo más allá de la zona de raíces, lo cual, en bastantes casos, significará su incorporación a las aguas subterráneas y finalmente a los acuíferos. Esta es una de las afecciones más graves del lavado de nitratos, puesto que el agua puede llegar a perder la potabilidad por esta causa.

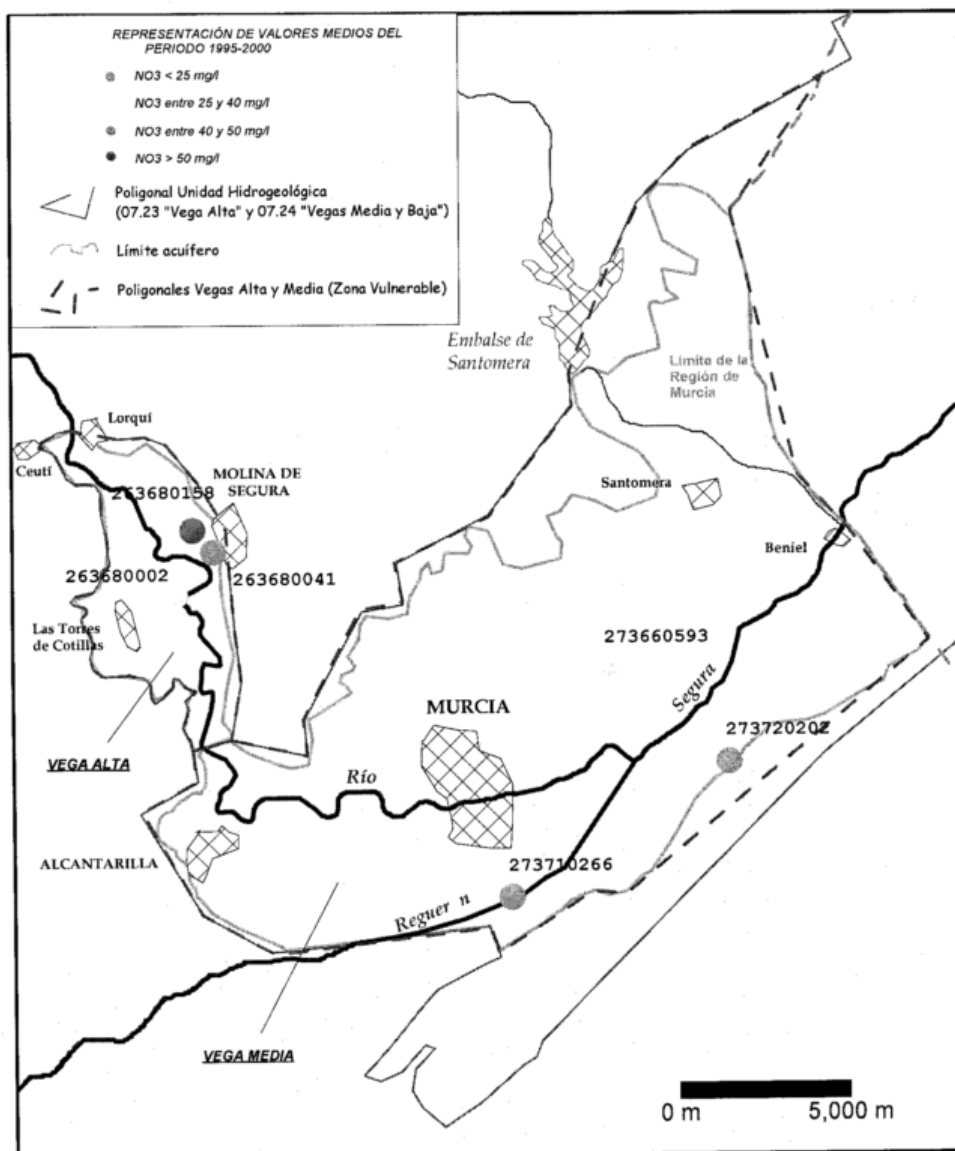


Figura II.1.1. Zonas vulnerables a la contaminación por nitratos en la Región de Murcia. Fuente: (BORM, 2009). <http://www.borm.es/borm/documento?obj=anu&id=363903>

- Desequilibrios nutricionales en los cultivos, debidos al hecho que la proporción de nutrientes de los fertilizantes orgánicos no siempre es proporcional a su demanda por parte de los cultivos. Por lo tanto, cuando se fertiliza con materiales orgánicos es especialmente conveniente realizar un análisis del suelo, puesto que el fósforo y el potasio están disponibles el año en que se realiza la aplicación, y en cambio no es así en lo referente al nitrógeno.
- Acumulación de elementos como el cobre y el zinc, entre otros, que por encima de ciertos umbrales pueden ser tóxicos.
- Dispersión de malezas.
- Contaminación de las aguas por aplicación directa.
- Contaminación de las aguas por escorrentía superficial. Hay peligro en suelos helados o hidromorfos. El arrastre por el agua de escorrentía de las partículas de la parte superior del suelo puede representar la pérdida de sustancias ricas en nitrógeno que se incorporan a las aguas; este hecho es más grave cuando este proceso se produce tras una aplicación de fertilizantes que no se han incorporado al suelo.
- Emisión de malos olores, metano y óxido nitroso, y volatilización de amoníaco. La generación de malos olores limita la aplicación de fertilizantes orgánicos en zonas próximas a pueblos, casas habitadas, etc., y para disminuirlas al máximo se ha de evitar la aplicación en días de viento, inyectar los purines al suelo o bien, una vez aplicados, incorporarlos rápidamente al suelo. En definitiva, se trata de evitar al máximo la volatilización del amoníaco. Por otra parte, el metano y el óxido nitroso son gases con efecto de invernadero y tóxicos.
- Acidificación del suelo por la nitrificación del amonio. Esto hace que haya un cambio de pH que afecta al suelo y al cultivo. En la mayoría de los suelos del estado español este proceso no es un problema puesto que son suelos básicos tamponados por la presencia de carbonato cálcico, pero sí que lo es en gran parte de Europa.
- Salinización de los suelos, lo cual disminuye la fertilidad.
- Destrucción de biotopos para los que el nitrógeno es limitante.
- Aumento de las alergias humanas y enfermedades respiratorias.
- Pérdida de biodiversidad.

B) Impactos ambientales positivos de una buena gestión de purines

Los impactos positivos de una aplicación de los purines porcinos adecuada al suelo (<http://www.arc-cat.net/ca/agencia/publicacions/purins.html>) son:

- El comportamiento de los purines es similar al comportamiento de un fertilizante de liberación lenta, es decir, que está disponible durante un largo periodo de tiempo. De esta manera, una aplicación al suelo en pre-siembra es suficiente para satisfacer las necesidades en post-emergencia hasta el final de la cosecha. La disponibilidad del nitrógeno orgánico depende del ritmo de mineralización del material, que hace falta conocer.
- Una aportación de micronutrientes, como el cobre (Cu) y el zinc (Zn), que son necesarios para el desarrollo del cultivo.
- Una aportación de agua, puesto que el purín tiene un elevado contenido de agua, que puede superar fácilmente el 90 %.
- Favorece, también, la conservación de la materia y de la energía.
- Por último, permite un ahorro de fertilizantes químicos (de síntesis y recursos minerales).

La utilización agronómica del purín, es una práctica que ha adquirido una gran importancia en determinadas zonas del Valle del Guadalentín (Región de Murcia), en donde conviven una agricultura con una ganadería intensiva, desarrollándose una horticultura gran consumidora de nutrientes, encontrando por tanto, en los purines no sólo su uso y aplicación más natural, sino un importante ahorro en fertilizantes.

El alto costo de los fertilizantes inorgánicos y el deterioro progresivo de la fertilidad natural del suelo debido al empleo desmesurado de los fertilizantes inorgánicos, han propiciado el estudio y uso de residuos orgánicos como fertilizantes agrícolas ([Hernández y Martínez, 1987](#); [Delgado *et al.*, 1999](#)). Por otro lado, en los estiércoles generados por la actividad ganadera se encuentran elementos esenciales para la nutrición vegetal ([Faz *et al.*, 2005](#); [Sánchez y González, 2005](#); [Llona y Faz, 2009](#); [Gómez-Garrido *et al.*, 2009](#)).

Desde el punto de vista social y económico, la problemática de los purines es paradójica, puesto que el contexto mundial de la fertilización está dibujado por el proceso de nutrient mining (agotamiento de la fertilidad química de los suelos) y por la imposibilidad de acceder a los fertilizantes ([Teira, *et al.*, 2006](#)). Desde el punto de vista ambiental, la aplicación de los purines como fertilizante es también la estrategia más sensata.

Energética y ambientalmente, el valor de sustitución del fertilizante mineral que tienen las deyecciones ganaderas es enorme. Por ejemplo, para abonar con nitrógeno una hectárea de maíz (que produce 13 t) se necesitan unos 650 kg de urea, la fabricación

de los cuales por el proceso de fijación de nitrógeno atmosférico consume unos 300 kg de combustible fósil y a la vez emite 900 kg CO₂ (Castorph *et al.*, 1999; Bossel, 2003; Spiers, 1961). En un contexto con disponibilidad de nitrógeno en las deyecciones ganaderas, no se justifica “repetir” el gasto energético y ambiental necesario para fijar de nuevo este nitrógeno de la atmósfera.

La sustitución del fertilizante mineral por los purines empleados como fertilizante no tan sólo es posible, cuando menos en parte, sino que es muy satisfactoria y rentable (Soliva, 1977; Bernal *et al.*, 1992; Cobertera, 1993; Andrades, 1996; Muñoz y Díez, 1999; Díez, 2000; Navarro y Navarro, 2000; Irañeta *et al.*, 2002; Faz *et al.*, 2003; Llona *et al.*, 2003; Murcia, 2003ab; Llona, 2005; Faz *et al.*, 2005; Domínguez *et al.*, 2009; Zanuzzi *et al.*, 2009; Domínguez *et al.* 2010; Estévez *et al.*, 2010; Faz, *et al.*, 2010, Bayo *et al.*, 2012; Kabas *et al.*, 2012; Zornoza *et al.*, 2012; Zornoza *et al.*, 2013).

La gestión racional de purines (Piñeiro, 1998) como fertilizantes se basa en la aplicación del Código de las Buenas Prácticas Agrarias y en el cálculo correcto de las dosis que se deben aplicar, que deben responder a las necesidades del cultivo y al contenido de nutrientes disponibles tanto en el suelo como en el purín.

Si se considera al suelo como almacén de nutrientes, lógicamente, si las plantas extraen elementos, necesariamente se deben restituir; en caso contrario, el suelo se agota y la planta no tiene de qué alimentarse lo que puede suponer un deterioro de la producción. Un suelo se considera fértil cuando es rico en nutrientes, lo cual, es sinónimo de productividad. La fertilidad se caracteriza por un conjunto de cualidades físico-químicas como textura, estructura, capacidad de retención de humedad, nivel de nutrientes, etc. La valorización de los residuos orgánicos mediante su aplicación a los suelos ha de perseguir y alcanzar la mejora de la producción agrícola, el compostaje, o bien la restauración de actividades extractivas (Felipó, 2001). El producto final si se quiere valorizar como fertilizante ha de cumplir una serie de propiedades. La base territorial disponible y la tipología de los cultivos, en caso de aplicación agrícola del residuo, es un factor que limitará la posibilidad de valorización del mismo (Danés y Boixadera, 2001).

Distintas estimaciones han puesto de manifiesto el elevado valor económico que las deyecciones ganaderas pueden llegar a suponer en función de la composición de los diferentes tipos de residuo.

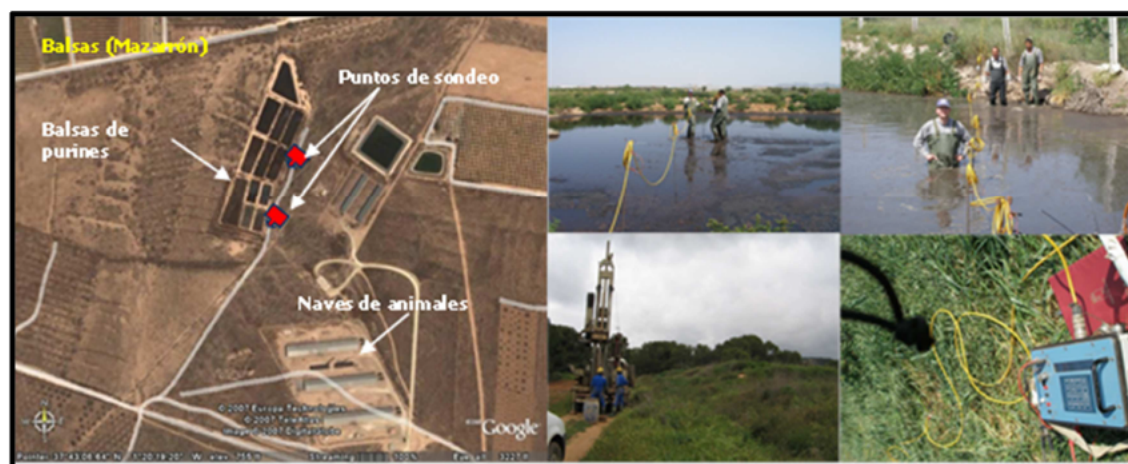
Se estimó un coste de 126,7 millones de euros en fertilizantes minerales que supondría la reutilización de todo el estiércol producido anualmente por el ganado vacuno de Estados Unidos (10 millones de animales) (Eghball y Power, 1994). En Inglaterra y Gales el valor fertilizante de la producción de estiércoles y purines de todo tipo de ganado oscila entre 96 y 128 millones de euros (Chambers *et al.*, 2000). Estos residuos animales contienen, en general, mayor cantidad de potasio que los lodos de depuradora pero una cantidad de nitrógeno y fósforo bastante inferior (Pomares y Canet, 2001).

El Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) y el Centro de Transferencia Agroalimentaria (CTA), ambos pertenecientes al Gobierno de Aragón, llevan colaborando durante años en la optimización del uso del purín como fertilizante agrícola a través de diferentes proyectos de investigación y demostración. Se han realizado ensayos en cereales de invierno en diferentes zonas de la Comunidad de Aragón, para valorar agronómicamente el purín en cuanto a contenido en nutrientes y establecer dosis adecuadas en diferentes cultivos. Se han estudiado además estrategias de aplicación en relación a métodos de aplicación y momentos, siempre con el objetivo de conocer y mejorar la eficiencia del uso de los nutrientes del purín, con prácticas respetuosas de manejo con el medio ambiente.

Los resultados obtenidos en los ensayos mostraron que es posible conseguir los mismos rendimientos que los obtenidos con fertilización mineral sin un mayor impacto sobre el medio ambiente, si la aplicación se realiza de forma adecuada permitiendo ahorro de costes en fertilizante mineral y dando salida al purín. El purín puede por ello sustituir o complementar el uso de fertilizantes minerales, en condiciones edafo-climáticas de la Cuenca del Ebro (Ferrer *et al.*, 1983; Daudén y Quílez, 2003; Irañeta *et al.*, 2002; Daudén y Quílez, 2004). Pero para poder utilizar el purín como fertilizante de forma eficiente es necesario realizar una adecuada dosificación. Para ello, es imprescindible conocer la composición de nutrientes del purín. Este es el principal inconveniente que dificulta el empleo del purín como fertilizante frente al mineral.

La Universidad Politécnica de Cartagena (GARSA-UPCT) ha llevado a cabo diversos estudios sobre la evaluación y seguimiento del purín de las balsas en el subsuelo, la utilización de efluentes porcinos como fertilizantes en cultivos, etc. (**Fotos II.1-5**). Por ejemplo, Faz *et al.* (2003), Faz *et al.* (2005) y Llona *et al.* (2003) estudiaron los efectos de los purines en cultivos de brócoli y sandía y sus efectos en las características físico-químicas del suelo. Encontraron que el purín de cerdo se puede tratar como un subproducto, con una utilidad agronómica, aplicándolo como sustituto o complementario

a la fertilización mineral en cultivos hortícolas, ya que mejora las propiedades y características físico-químicas del suelo. La mejora de estos parámetros se ve reflejada en las parcelas cuya aplicación de purín fue sucesiva durante tres años de experimentación, especialmente en las dosis de purín más altas. No se evidenciaron rasgos contaminantes en estas parcelas, ni en suelo ni en planta. Además, la producción en ambos cultivos, brócoli y sandía, se vio incrementada sobrepasando la media de la zona (Llona, 2005).



Fotos II.1-5. Evaluación y seguimiento del purín de las balsas en el subsuelo. Método de Tomografía Eléctrica (Martínez-Pagán *et al.*, 2006, 2011, 2013; Rosales *et al.*, 2012).

Otro de los estudios llevados a cabo por GARS-UPCT, consistió en la fertilización de 10 parcelas de 12x30 m² de almendros en La Aljorra (Cartagena-Murcia), utilizando tres formas de purín: bruto, líquido y sólido, en tres dosis distintas y un control que no recibió fertilización ni enmienda. Las dosis se establecieron de acuerdo a la Directiva 91/676/EEC sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos de origen agrario, siendo una dosis de 170 kg N/ha/año, y las otras el doble y triple de ésta.

Domínguez *et al.* (2010) obtuvieron que la aplicación de tres formas de purín (bruto, sólido tras separación físico-química, y líquido tras separación físico-química) mostraron diferentes efectos en la fertilidad del suelo y la dinámica de la materia orgánica:

- El uso de purín sólido como fertilizante incorpora materia orgánica más estabilizada de forma que el carbono orgánico puede incrementar hasta un 40%, con un efecto positivo actuando el suelo como sumidero de carbono, lo que ayuda a mitigar los efectos del calentamiento global.

- Con respecto a la dinámica de C, las dosis empleadas de las aplicaciones de purín en sus diferentes formas no mostraron diferencias, con resultados similares en la mayoría de las propiedades.
- Sin embargo, en la dinámica del N, las dosis aplicadas son determinantes, pues aunque no se mostraron diferencias en el NT contenido en las muestras de suelo para las diferentes dosis usadas, esto hace pensar que la mayoría del NO se mineraliza a formas solubles como compuestos orgánicos solubles, NH_4^+ y NO_3^- y por ello es de especial importancia el control de las dosis de NT para evitar la lixiviación de N soluble que puede ser mineralizado rápidamente pudiendo provocar la contaminación de acuíferos por nitratos.

Con este estudio, se muestra la importancia de realizar análisis bioquímicos cuando se estudia la dinámica de la materia orgánica, ya que son más sensibles a los diferentes tratamientos y dosis aplicados que el carbono orgánico o nitrógeno total.

En la **foto II.6.** se muestran ensayos de aplicación agronómica de diferentes formas de purín (sólido/líquido) realizados por la Universidad Politécnica de Cartagena por el grupo de investigación GARSA (Gestión, Aprovechamiento y Recuperación de Suelos y Aguas) dirigido por Ángel Faz Cano.



Foto II.6. Ensayos de aplicación agronómica de purín en los terrenos próximos a una explotación ganadera de piensos ALIA (Lorca).

II.2. GESTIÓN Y TRATAMIENTOS DE PURÍN DE CERDO.

Como ya se ha comentado anteriormente, una de las elecciones más económicas para la gestión del purín, es su valorización agronómica, siempre y cuando se disponga de suficiente superficie agraria útil y se aplique de forma controlada (Daudén y Quilez, 2003).

Según Rydberg (2006) la situación ideal, es la de equilibrio entre la producción de purines y las posibilidades de aplicación al suelo de estos purines. Sólo tiene sentido aplicar tratamientos de purín, en aquellas explotaciones donde este equilibrio no exista, permitiendo que estas explotaciones puedan pervivir sin comprometer la calidad ambiental de cara al futuro y protegiendo las aguas (Cortellini, 2006; Vrancken *et al.*, 2006)

Un tratamiento es una operación o conjunto de operaciones que cambian las características físicas, químicas o biológicas de un residuo con el objetivo de neutralizar las sustancias tóxicas, recuperar materiales valorizables, facilitar su uso como fuente de energía o favorecer su disposición al rechazo. El objetivo final del tratamiento debe ser aumentar las posibilidades de gestión del residuo o de los productos resultantes (Teira *et al.*, 2006).

La idoneidad de un proceso dependerá del contexto en que se encuentre la explotación, de las necesidades manifestadas en estudios preliminares, de la planificación de la gestión, de la calidad del producto obtenido y de los costes económicos asociados (costes de implantación y de explotación, así como posibles ingresos de la venta del producto final), (Martínez-Almela y Barrera, 2005; Teira *et al.*, 2006; Lorimor *et al.*, 2006).

En la actualidad existen infinidad de sistemas de gestión o tratamientos de purines que permiten reducir su volumen así como su carga contaminante. Son de destacar, aquellos métodos de gestión que permiten una valorización y aprovechamiento mediante sistemas lo menos agresivos posible y, en cierto modo, beneficiosos para el entorno.

Entre ellos se encuentra la utilización directa de los purines en el abonado de suelos (valorización agronómica), separación mecánica de fases para reducir volumen y posterior aplicación en suelos como enmiendas (fase sólida) o en el sistema de riego (fase líquida), tratamientos biológicos (digestión aeróbica y/o anaeróbica), compostaje, plantas de cogeneración, etc. (Pain *et al.*, 1978; Kroodsma, 1986; Rexillus y Ruprich, 1989; Reimann y Potsdam, 1991; Zhang y Westerman, 1997; Burton, 1997; Zhang y Lei, 1998; Vanotti y Hunt, 1999; Møller *et al.*, 2000; Vanotti *et al.*, 2002; Walker y Kelley, 2003; González, 2003; Melse y Verdoes, 2005; Caballero-Lajarín *et al.*, 2006 a,b; Burton, 2007; Yetilmezsoy y Sapci-Zengin, 2009; Daumer *et al.*, 2009; Daumer *et al.*, 2010).

Todos estos tratamientos parten de una primera etapa de almacenamiento de los purines (Barker, 1996), que se ha de realizar correctamente en fosos y balsas teniendo

en cuenta su capacidad de almacenamiento (CBPA, 2003) y sus características constructivas que se han explicado por muchos autores destacando algunos como los fosos de albañilería, fosos impermeabilizados y cubiertas, (Teira *et al.*, 2006).



Fotos II.7, 8 y 9. Limpieza de fosos. Explotación porcina de CEFU, SA, (Alhama de Murcia).

Algunos de los métodos de aplicación de purín son mediante cuba o mediante de agua de riego:

Cuba: se trata de un sistema tradicional de aplicación de purines como abonado de fondo, con una boquilla de gran diámetro que proyecta el purín formando un abanico de 10-14 m de ancho y 2-3 m de altura (Foto II.10), teniendo como ventaja su precio y que no tiene problemas cuando trabaja con purines espesos, y como inconvenientes, poca anchura de trabajo, sensibilidad al viento, reparto heterogéneo con perfil en forma de “M” (mayor dosis en los laterales y menor en el centro), regulación delicada, dispersión de olores y volatilización muy importante. La dosis por hectárea es regulada mediante la velocidad de avance.

Agua de riego: se trata de un sistema de aplicación de purín bien mediante descarga de cuba en arqueta, bien mediante la conexión de la balsa de almacenamiento de purines con la red de acequias para riego por inundación (Foto II.11). Tiene como ventaja además de su aplicación en cobertera una vez implantado el cultivo, su dosificación, su distribución en la parcela e incorporación al suelo, menor volatilización y dispersión de olores.



Fotos II.10 y 11. Aplicación de purín con cuba y agua de riego.

De entre los numerosos tipos de tratamientos podemos enunciar los siguientes: incorporación de aditivos, separación sólido/líquido, electrocoagulación, filtración por membrana y ósmosis inversa, compostaje, digestión aerobia, ozonización, digestión anaerobia, conversión termoquímica, producción de hidrógeno, generación de bioelectricidad, nitrificación-desnitrificación, nitrificación parcial-anammox (gas inocuo), *stripping*/absorción, eliminación de fósforo o de estruvita, evaporación/secado, biosecado y tratamientos combinados, (Tabla II.4).

Tabla II.4. Procesos sobre el purín según el objetivo principal (Teira, *et al.*, 2006).

Objetivo principal	Proceso
Tratamientos que actúan sobre las propiedades físicas y químicas	Incorporación de aditivos
	Electrocoagulación
	Membranas/Osmosis inversa
Tratamientos de estabilización de la materia orgánica	Compostaje (de la materia orgánica o apilable)
	Digestión aeróbica auto-térmica (ATAD)
	Ozonización
Tratamientos con producción de energía	Digestión anaerobia
	Conversión termoquímica (TCC)
	Producción de hidrógeno
	Bioelectricidad (MFC)
Tratamientos que actúan sobre el contenido de nutrientes (N y/o P)	Nitrificación-desnitrificación (NDN)
	Nitrificación parcial-anammox
	<i>Stripping</i> /Adsorción
	Eliminación de fósforo
Tratamientos que actúan sobre el contenido de agua	Evaporación/secado
	Biosecado

Cada uno de ellos ha sido ampliamente explicado en documentos elaborados por diferentes autores (Campos, 2001; Campos *et al.*, 2001; Flotats *et al.*, 2001; Campos *et al.*, 2004; Martínez-Almela y Barrera, 2005; Bigeriego *et al.*, 2006; Bonmatí y Magrí, 2006; Chevaux, 2006; Teira, *et al.*, 2006; Flotats, 2009; Espejo *et al.*, 2009, entre otros).

Algunos de estos tratamientos han sido además patentados: (Henriksen, 1995; Borros Gómez, 2001; Blanco y Tijero 2002; Sunyer, 2002; Roca, 2005; Acosta, 2006; Pons, 2006; Marchello, 2007; Pérez *et al.*, 2009; Espiell, 2010; Fernández, 2010, entre otras.)

El tratamiento de purín o estiércol normalmente no comprende una sola técnica, sino una secuencia de diferentes acciones, donde la eficacia del proceso y los beneficios medioambientales se pueden ver afectados por:

- Las características del purín o del estiércol.
- Los efectos de cada tratamiento individual aplicado anteriormente.
- La forma y secuencia en que se aplican esas técnicas.

Según el objetivo que se quiera alcanzar, se puede optar por una única técnica o una combinación de varios tratamientos, diferentes según su complejidad, coste y número de operaciones.

En la selección de la tecnología de tratamiento se deberá tener muy en cuenta la eficacia medioambiental real de la misma, sus características de operación, sus consumos (materiales y energía), sus costes asociados (de inversión y de operación), y que no se produzcan efectos asociados indeseados (olores y transferencia de contaminantes en forma de emisiones de gases principalmente). A continuación de forma resumida se han expuesto algunos de ellos tal y como se explica en el documento elaborado por [Bigeriego et al. \(2006\)](#):

A) Separación sólido-líquido

La separación de las dos fracciones que contiene el purín se puede conseguir utilizando únicamente equipos mecánicos (separación física) o mediante el empleo adicional de agentes químicos (separación físico-química). Ambos son procesos de segregación y, por sí mismos, no eliminan la presencia en la fracción líquida de un alto contenido de materia orgánica y de nitrógeno en forma soluble. En el purín de cerdo, la mayor parte del nitrógeno queda en esta fracción.

La separación puede ser por decantación natural o mecánica (por gravedad, centrifugación o presión), mediante equipos como tamices, prensas, o filtros.

El método físico-químico, con el que se consigue una eficiencia mayor, se utiliza para segregar partículas en suspensión o coloidales, que no sedimentan de forma natural debido a su pequeño tamaño y a la carga superficial negativa que las repele.

Para provocar la separación de las fracciones, se añaden compuestos químicos como coagulantes o floculantes (sales de hierro y aluminio o polielectrolitos, por ejemplo) que neutralizan las cargas eléctricas repulsivas y forman agregados de mayor tamaño y peso (llamados coágulos o flóculos) que permiten la sedimentación por gravedad o la separación por flotación.

La principal aplicación de estas técnicas es como tratamiento de inicio, puesto que permite que cada fracción obtenida pueda someterse por separado a otros tratamientos.

En cuanto a los inconvenientes, el principal es el coste de los agentes químicos, que puede limitar su uso, y la escasa eliminación de las formas solubles, principalmente de nitrógeno.

B) Compostaje

El compostaje es un proceso de degradación aeróbica de sustratos orgánicos llevado a cabo por microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos). Para compostar purín, es necesario añadir un sustrato sólido rico en carbono que permita alcanzar la relación carbono/nitrógeno adecuada y que actúe como agente estructurante. Se suele emplear viruta, restos de poda o yacija de granjas avícolas.

Las temperaturas alcanzadas durante el proceso, permiten la obtención de un producto final estabilizado, donde se reduce drásticamente el contenido en patógenos y se mejoran las aptitudes para ser usado como abono en los cultivos.

Cuando los microorganismos descomponen el sustrato se consume oxígeno y se genera dióxido de carbono y energía calorífica. Para conseguir un compostaje efectivo, se deben dar las siguientes premisas:

- Aireación frecuente, para proporcionar oxígeno y regular la humedad y la temperatura.
- Porcentaje óptimo de humedad, con un 25-35% de materia seca.
- Temperaturas altas (generadas por la acción microbiana), que aseguran la eliminación de los patógenos.
- Porosidad en la masa.
- Relación carbono-nitrógeno al inicio del proceso cercana a 30.

Los métodos para compostar se pueden clasificar en cuatro grupos:

- Pilas estáticas con aireación pasiva. Para garantizar el suministro de oxígeno, se pueden incorporar tubos que atraviesen el montón de forma horizontal o vertical.
- Pilas estáticas con aireación forzada, que acelera la actividad microbiana mediante un sistema de tuberías combinado con un suelo poroso sobre el que se asienta la masa.
- Hileras con agitación mecánica. En este caso, el compost se distribuye en montones de mayor longitud, y con un sistema de volteo, se airea y homogeniza.
- Reactores o silos, que combinan la aireación forzada y la agitación mecánica.

Las principales ventajas del compostaje son la obtención de un estiércol sólido higienizado más fácilmente manejable y transportable y la transformación del nitrógeno

amoniaco en nitrógeno orgánico y nítrico. Estas ventajas hacen que el producto obtenido tenga un mayor valor agronómico.

La principal limitación es la disponibilidad y coste del sustrato. Otros inconvenientes son la necesidad de bastante espacio y la posibilidad de pérdidas de nitrógeno a la atmósfera en forma de amoníaco si la relación carbono-nitrógeno es baja.

C) Nitrificación-desnitrificación

El tratamiento de nitrificación/desnitrificación es un proceso que combina etapas aerobias y anaerobias, donde los microorganismos transforman los compuestos nitrogenados presentes en el purín. El sistema consiste en ir pasando el purín o la fracción líquida previamente separada a lo largo de una serie de balsas diseñadas y acondicionadas especialmente para conseguir las condiciones requeridas en cada etapa.

- En la primera etapa (nitrificación), las bacterias autótrofas oxidan el amonio a nitrato en presencia de oxígeno. Para conseguir un buen rendimiento en esta fase se utilizan agitadores o bien inyectoros de aire.
- En la segunda (desnitrificación), el nitrato se reduce a nitrógeno molecular (N_2) en ausencia de oxígeno mediante bacterias heterótrofas. El nitrógeno no se elimina en forma de gas, sino que se distribuye entre el fango generado y el efluente líquido tratado. Aprovechando la necesidad de consumo de materia orgánica en el proceso de desnitrificación, con esta técnica se puede eliminar también la materia orgánica presente en el purín sin necesidad de aportar oxígeno.

Algunas ventajas de este proceso son la transformación de buena parte del nitrógeno orgánico y amoniacal en N_2 , inerte y no contaminante, y la eliminación de la materia orgánica.

Sin embargo, esta técnica está limitada por inconvenientes como la generación de un fango que hay que tratar y el coste de inversión y de explotación.

D) Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso microbiológico de descomposición de la materia orgánica en ausencia de oxígeno que comprende las siguientes etapas:

- Hidrólisis de la materia orgánica.
- Acidogénesis y acetogénesis, donde los productos de la hidrólisis se transforman en ácidos grasos volátiles.

- Formación de biogás a partir de los ácidos grasos volátiles, compuesto principalmente por metano y dióxido de carbono.

A veces, se estimula este proceso natural con el objetivo de producir biogás para su aprovechamiento como fuente de energía. Con este proceso se reduce la concentración de materia orgánica, de malos olores, de sólidos y de microorganismos patógenos (especialmente si el régimen de fermentación es a temperatura termófila a unos 55 °C, respecto del mesófilo a 37 °C). [Hill y Bolte \(2000\)](#), determinaron que la producción de metano de un purín con baja concentración de sólido y los mejores tiempos de retención hidráulicos hace factible la digestión anaeróbica de este tipo de residuo.

Las investigaciones sobre esta área se están centrando en el incremento de biogás potencial mediante pre-tratamientos (químico, mecánico o térmico) del estiércol, además de la mezcla de diferentes tipos de residuos (codigestión) tomando la ventaja de sus efectos sinérgicos ([Campos et al., 2001](#)). La separación de las fracciones sólida y líquida se puede considerar como un pre-tratamiento para la mejora de la generación anaeróbica de biogás ([Moller et al., 2004](#)). [Campos et al. \(2002\)](#) obtuvieron una mejora de biogás cuando añadieron diferentes cantidades de poliacrilamida (PAM) incrementando la concentración de sólidos totales para digerir. Del mismo modo, [Rico et al. \(2007\)](#) estudiaron la biodegradación anaeróbica del estiércol floculado de origen vacuno usando sales y PAM.

La principal desventaja de este tratamiento es que no elimina el nitrógeno, por lo que en las explotaciones o zonas con excedentes de este elemento no se resuelve el problema. Cuando se pretende utilizar el biogás generado, surgen otros inconvenientes como los elevados costes de inversión en infraestructuras y el bajo rendimiento en la producción de este gas cuando sólo se utilizan purines de cerdo.

E) Digestión aerobia

La digestión aerobia es otro proceso microbiológico de descomposición de la materia orgánica, en este caso, en presencia de oxígeno. El sistema es equivalente al compostaje, pero se puede partir directamente de la fracción líquida. Su principal objetivo es cambiar la forma en que se presenta el nitrógeno en el purín, pasando de nitrógeno amoniacal a nitrógeno orgánico y nítrico.

Las principales ventajas de la digestión aerobia son la disminución de la carga orgánica, del nitrógeno amoniacal, de los organismos patógenos y de los malos olores. Además, se mejoran las características fertilizantes del purín. Su manejo es sencillo,

puesto que sólo se requiere un sistema que aporte oxígeno en forma de aireación por agitación del purín o por inyección.

Sin embargo, el aporte de oxígeno incrementa el consumo de energía eléctrica y, en algunos casos, la aparición de bacterias filamentosas que hacen difícil el control de las espumas durante la aireación.

F) Evaporación o secado

El objetivo de estos procesos térmicos es la reducción del contenido en agua de los purines.

En el proceso, se hace pasar el efluente líquido con materia disuelta por un evaporador, y se genera un fango o concentrado con un contenido en sólidos totales, que tradicionalmente fluctuaba entre el 20-30%.

Actualmente, se han desarrollado otros sistemas con los que se consigue la deshidratación total del purín. Para hacerlos eficientes desde el punto de vista económico, deben ir asociados a cogeneración eléctrica.

Por tanto, con el secado o evaporación se consigue una reducción notable de volumen y se mantienen los nutrientes en la fase sólida, facilitando su posterior uso agrícola al abaratarse los costes de transporte respecto del purín. Además se consigue la esterilización del producto gracias a las altas temperaturas.

Los principales inconvenientes son el coste de inversión y de mantenimiento, por el alto consumo energético que requiere, y la posibilidad de emisiones a la atmósfera.

Este tratamiento debe ir precedido siempre de sistemas que permitan transformar y secuestrar al nitrógeno amoniacal soluble para que quede retenido en la parte sólida deshidratada, evitando pérdidas en la evaporación.

G) *Stripping* y absorción

El *stripping* es un tratamiento cuyo objetivo es la recuperación del nitrógeno de los purines en forma de agua amoniacal o sal de amonio.

En el proceso, el nitrógeno amoniacal se elimina al ser captado por una corriente de aire y disuelto en agua. Para facilitar estas reacciones se emplean sales, como óxido de calcio, con el objetivo de elevar el pH hasta 12.

Es posible que se produzcan problemas de formación de espumas y sedimentación de sólidos. Para evitarlo, puede ser de utilidad la combinación del *stripping* con una digestión anaerobia previa.

La principal ventaja de esta técnica es la obtención de un producto concentrado que puede ser comercializado como fertilizante. Pero presenta el inconveniente de que es

necesario un tratamiento previo (digestión anaerobia, aerobia, separación sólido-líquido, etc.), para asegurar que el producto final tenga la calidad suficiente para poder comercializarse.

H) Filtración por membrana

La filtración por membrana consiste en la separación de las partículas de la fracción líquida del purín a través de membranas semipermeables. El proceso consigue disminuir el contenido en sólidos, la concentración de la materia orgánica y el contenido en microorganismos patógenos de este tipo de residuos.

Como paso previo a la filtración, se requiere un tratamiento de separación que elimine los sólidos más gruesos que puedan obstruir después las membranas.

En la variante más sencilla de la filtración por membrana, se pasa la fracción líquida del purín a través de una membrana semipermeable que retiene las partículas de tamaño superior al diámetro de poro.

En el caso de la filtración por ósmosis inversa, el purín se hace pasar a través de una membrana semipermeable mediante la aplicación de presión, con el objetivo de conseguir la concentración de la solución.

Este sistema requiere un escaso mantenimiento y es posible su automatización. Sin embargo, pueden aparecer problemas por las obstrucciones, que hacen necesarias operaciones de limpieza química que incrementan los costes de esta técnica, ya de por sí elevados. Por otra parte, tiene baja eficiencia en la eliminación del nitrógeno amoniacal.

I) Biorremediación

La actividad sinérgica de este consorcio implica que las microalgas durante la fotosíntesis proveen del oxígeno que las bacterias heterótrofas necesitan para la degradación de la materia orgánica, mientras que las bacterias simultáneamente mediante la oxidación de materia orgánica suministran de dióxido de carbono y nutrientes (nitrógeno y fósforo) que necesitan las microalgas.

Algunos estudios han mostrado que la actividad de las microalgas está a menudo limitada por componentes en este microcosmos simbiótico debido a su alta sensibilidad hacia tóxicos (como NH_3 de las aguas residuales) y por las limitaciones inherentes al suministro de luz (Muñoz *et al.*, 2004; González *et al.*, 2008a,b; de Godos *et al.*, 2010).

Este proceso biotecnológico parece óptimo cuando elimina los contaminantes de las aguas recuperando nutrientes asimilados en la biomasa. Diferentes configuraciones de reactor, parámetros medioambientales o características de sustrato nos han llevado a

un amplio rango de resultados no comparables entre ellos debido a gran número de parámetros posibles que afectan a la producción de biomasa o eliminación de nutrientes.

Con respecto a las configuraciones del reactor, las balsas abiertas se han empleado durante las últimas décadas aunque algunos inconvenientes se han detectado. Las emisiones de CO₂ a la atmósfera, pérdidas por evaporación, riesgo de contaminación y la extensa área necesaria se listaron como principales desventajas (Pulz, 2001). Se han llevado a cabo diversos intentos para superar estas limitaciones como el empleo de fotobiorreactores cubiertos.

Por lo tanto, desde un punto de vista energético, los sistemas abiertos son más favorables que los cerrados. Por ejemplo, Acien *et al.* (2008) estimaron un coste energético de entre 50 y 300 W/m³ para fotorreactores cerrados mientras que la energía necesaria para balsas abiertas requieren 1 W/m³. De esta manera, hoy en día las balsas abiertas parecen ser los sistemas más efectivos desde el punto de vista económico para el tratamiento de aguas residuales.

Los factores medioambientales tales como la luz y la temperatura han sido descritos como los principales parámetros que afectan a la calidad del efluente y a la producción de biomasa en las balsas abiertas (Vonshak, 1997; de la Noue y Basseres, 1989). La penetración de la luz en el caldo de cultivo es de importancia extrema para la actividad fotosintética de las microalgas.

Para mejorar la penetración de la luz, han sido empleados pre-tratamientos tales como la digestión anaeróbica, sedimentación o precipitación (Barlow *et al.*, 1975; Wilkie y Mulbry, 2002; Molinuevo-Salces *et al.*, 2010). La temperatura es otro factor operacional para el éxito del tratamiento basados en el consorcio microalgas- bacterias.

Respecto a las aguas residuales tratadas, las microalgas se proponen como los microorganismos que permiten el reciclaje de nutrientes mediante su incorporación dentro de sus células. La baja relación C/N que el purín de cerdo presenta, hace que sea un agua residual ideal para el crecimiento del consorcio microalgas- bacterias. Además, la concentración de amonio elevada en el purín es el principal problema encontrado cuando aplicamos otros biotratamientos.

Los tradicionales tratamientos de aireación resultan un coste alto que se puede reducir mediante suministro de oxígeno fotosintético producido por las microalgas. De esta forma, el nitrógeno no sólo es eliminado sino también recuperado en forma de biomasa para otros usos (fertilizante, fuente de bioenergía o suplemento rico en proteína

en alimentos). Por lo tanto, esta ventaja es frecuentemente sobreestimada, cuando el *stripping* de amonio junto con procesos de nitrificación/desnitrificación también se describen por otros investigadores como posible transformación/eliminación (Risgaard-Petersen *et al.*, 2004; González *et al.*, 2008a,b y Molinuevo-Salces *et al.*, 2010).

De esa manera, se debe enfatizar que las altas eliminaciones de nitrógeno del medio no siempre corresponden con una alta recuperación de nitrógeno. Los resultados de eliminación de amonio en la literatura son extensos en balsas abiertas pero no son comparables debido a la cepa diferente de microalgas, condiciones operacionales o diseño de reactor usado.

Los sistemas de balsas abiertas están gobernados por diferentes fuerzas según la literatura. Por ejemplo, de la Noue y Basseres (1989) atribuyeron la eliminación de amonio principalmente a la asimilación de las algas. Zimno *et al.* (2003) concluyeron que el principal mecanismo en las balsas con algas era el de nitrificación/desnitrificación mientras que Barlow *et al.* (1975) y Aslan y Kapdan (2006) observaron que el principal mecanismo de eliminación de nitrógeno era el *stripping* sobre amonio. Ninguno de estos estudios son comparables entre ellos debido a las diferencias de la configuración del reactor, condiciones operacionales, inoculación, tipo de agua residual y condiciones medioambientales que son de gran importancia para evaluar la eficiencia del consorcio bacteria y microalgas.

II.3. HUMEDALES ARTIFICIALES.

II.3.1. Características generales de los humedales: ¿Qué son?, ¿Para qué sirven?, antecedentes y diseño.

A) ¿Qué son los humedales artificiales?

Los humedales naturales son un recurso natural vital y una parte crítica de nuestro ambiente, por lo que han aumentado los esfuerzos para proteger estas comunidades acuáticas frágiles frente a la contaminación.

Los humedales contruidos o artificiales imitan a los naturales actuando como un sistema de tratamiento de aguas residuales y consisten en un mono o policultivo de plantas macrófitas dispuestas en lagunas, tanques o bien canales poco profundos.

Estas áreas se encuentran saturadas por aguas superficiales o subterráneas. En el caso de humedales con aguas superficiales, éstas tienen unas profundidades inferiores a 100 cm y como plantas emergentes o macrófitos a espadañas, carrizos o juncos, entre otras.

El influente empleado en los humedales contruidos está previamente tratado a través de varios procesos, es decir este tipo de tratamiento es considerado como un tratamiento secundario o mejor terciario.

La vegetación del humedal proporciona superficies para la formación de películas bacterianas, facilitando la filtración y la adsorción de los constituyentes del agua residual, permitiendo la transferencia de oxígeno a la columna de agua (el oxígeno necesario para estos procesos es suministrado por la propias plantas del humedal, que lo forman por fotosíntesis o lo toman del aire y los inyectan hasta la zona radicular). Esta transferencia de oxígeno hacia la zona radicular, por parte de las plantas es un requisito imprescindible para que la eliminación microbiana de algunos contaminantes se realice con eficacia, estimulando además la degradación de la materia orgánica y el crecimiento de bacterias nitrificantes. Este proceso también controla el crecimiento de algas, y por consiguiente su eutrofización, ya que limitan la penetración de la luz solar. Las plantas juegan un papel fundamental en estos sistemas, ya que, además de airear el sistema y eliminar contaminantes, asimilándolos directamente en sus tejidos, sus raíces y rizomas, proporcionan una extensa superficie para posibilitar el crecimiento bacteriano y permitir la filtración de sólidos en suspensión.

B) ¿Para qué sirven?

El tratamiento de aguas residuales convencional comprende normalmente los tratamientos primario, secundario y terciario. Sorprendentemente un buen método para el tratamiento de las aguas residuales es el uso de los humedales artificiales, donde los componentes básicos de los humedales naturales (suelo, plantas acuáticas, agua) se utilizan como sistema funcional de tratamiento de agua residuales. Esto comprende a

menudo el uso de grandes balsas (tratamiento clásico de aguas residuales) donde se controlan rigurosamente la mezcla y el intercambio de gases.

Los humedales artificiales se utilizan cada vez más en biorremediación. Este sistema utiliza plantas flotantes, emergentes o sumergidas. El sistema puede servir para efectuar un tratamiento terciario en los efluentes secundarios de sistemas de depuración convencionales, con eliminación de elementos minerales eutrofizantes; también puede emplearse para efectuar un tratamiento secundario, descomponiendo la materia orgánica disuelta, por medio de los microorganismos adheridos al sistema radicular de las plantas utilizadas. Igualmente, puede favorecer la reducción de los sólidos en suspensión al quedar adheridos al sistema radicular, favoreciéndose así el ataque de la materia orgánica depositada por parte de los microorganismos fijos a las raíces de las plantas. Además del efecto depurador, el sistema posibilita la producción de biomasa, la que podría ser empleada en alimentación animal (si no contuviera metales pesados o productos tóxicos), para la fabricación de compost o para fines industriales (artesanía, materiales de construcción aislantes, etc.).

Por tanto, los principales contaminantes eliminados por los mecanismos de depuración en un sistema con plantas acuáticas emergentes ([Martín, 1989](#)), son:

- Sólidos en suspensión.
- Materia orgánica.
- Nitrógeno.
- Fósforo.
- Microorganismos patógenos.
- Metales pesados.

C) Antecedentes

Estos sistemas “naturales” de depuración se conocen desde antiguo. Los Aztecas ya cultivaban plantas en contenedores flotantes, que se alimentaban de los nutrientes del agua del Lago Texcoco en México ([Tamayo, 2002](#)), y estos sistemas de depuración con plantas acuáticas imitan este antiguo sistema.

Posteriormente, las primeras pruebas de la capacidad de las plantas para depurar aguas se obtuvieron en diversas zonas húmedas o marjales naturales sometidos a vertidos residuales, y se comprobó que el agua, después de su paso por estas zonas, mostraba importantes reducciones en la carga de nutrientes ([Martín, 1989](#)).

La construcción de sistemas artificiales, o humedales contruidos, con especies emergentes para tratar aguas residuales, principalmente basados en los valores de demanda química y bioquímica de oxígeno, tuvo su origen en Alemania en los años 50

(Vymazal, 2005), y ha sido en este país donde se ha llevado a cabo gran parte del desarrollo de estos procesos de depuración; no obstante, los países donde se está trabajando más en este campo en la última década son Gran Bretaña, EE.UU. y Australia (Pérez-Olmedilla y Rojo, 2000).

De hecho, la utilización de estos humedales contruidos, como depuradores naturales, está ampliamente extendida por todo el territorio de Gran Bretaña (Griffin y Upton, 1999). Cabe destacar que en países con menos recursos económicos, como la India o la República Checa parece existir últimamente una cierta proliferación de este tipo de tratamiento de aguas residuales debido a su eficacia y a un coste muy por debajo de los sistemas de tratamiento de aguas residuales convencionales, (Vymazal, 1996).

En Europa se cifran en unos 500 los sistemas de depuración existentes basados en macrófitos emergentes, que están en funcionamiento en la actualidad; y se encuentran principalmente en Dinamarca, Gran Bretaña y Austria. Sólo Dinamarca tiene más de 109 sistemas contruidos con una superficie que varía entre 0,01 y las 13 ha, con unos caudales que van desde 2,6 a 2.600 m³/día. Estos sistemas son pequeños, y son utilizados principalmente para tratar aguas residuales de pequeños municipios, agroindustrias y casas particulares.

En cuanto a los continentes donde predominan los centros de investigación que han publicado recientemente más artículos referidos a estos humedales contruidos, claramente destaca Europa, posiblemente por ser donde confluyen una mayoría de países ricos, con alta densidad de población y elevado consumo de agua frente a los recursos (Pérez-Olmedilla y Rojo, 2000). Incluso en la Región de Murcia, concretamente en la comarca de Lorca, ya se han realizado los informes previos para la instalación de dichos sistemas para la depuración de aguas residuales urbanas de pequeños núcleos de población en su zona de montaña. Además la UE tiene publicada una *“Guía 2001 de procesos extensivos de depuración de aguas residuales”* adaptada a pequeñas y medianas colectividades, como consecuencia de la aplicación de la Directiva del Consejo 91/271 de 21 de mayo de 1991 sobre tratamiento de las aguas urbanas residuales (Oficina Internacional del Agua, 2001).

Existe un sistema diseñado por la Universidad Politécnica de Madrid (UPM) que se denomina Sistema de Filtro de Macrófitas en Flotación (FMF), y que fue patentado por el Grupo de Agroenergética del Departamento de Producción Vegetal de la UPM en el ámbito nacional con el título “Procedimiento de depuración de aguas residuales y vertidos contaminantes en base a cultivos de macrófitos emergentes convertidos en flotantes” (nº de patente P9700706). Este trabajo se enmarca en el proyecto “Filtros de Macrofitas en Flotación para la Región Mediterránea” financiado por la Comisión Europea a través del Programa LIFE-Medio Ambiente.

Igualmente, está patentado en Estados Unidos y en diversos países europeos. Esta patente está en el mercado para su comercialización, existiendo una cesión de utilización a favor de AENA para todos los aeropuertos nacionales.

En julio de 2005 en el “Encuentro Internacional en Fitodepuración” celebrado en Lorca (Murcia), se puso de manifiesto la importancia de estos humedales en la depuración de efluentes residuales. De hecho, del total de trabajos presentados, quizás resaltan los hallazgos relativos a la depuración microbiológica (Molleda *et al.*, 2005; Morató *et al.*, 2005), depuración de fósforo (Arias *et al.*, 2005), de materia orgánica (Puigagut *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2005; Caselles-Osorio y García, 2005), de metales pesados (Mandi *et al.*, 2005) y de sales (Anac *et al.*, 2005). Asimismo, se reafirmaron aspectos positivos en depuración de aguas residuales en poblaciones (Cortijo *et al.*, 2005; Brasó y Más, 2005) y depuración de aguas industriales (Vossoughi *et al.*, 2005), mediante la utilización de diferentes especies vegetales en los sistemas de depuración (Maddison y Mander, 2005; Lucía *et al.*, 2005).

Siguiendo con los trabajos expuestos en este Encuentro, es necesario señalar que también fueron presentadas algunas experiencias de especial relevancia relacionadas con los sistemas de filtros verdes en la depuración de las aguas subterráneas contaminadas (Bustamante *et al.*, 2005), humedales artificiales en algunas plantas experimentales (Salas *et al.*, 2005) o tratamientos anaeróbicos en laboratorio de efluentes sulfatados (Gonzalías, 2005).

Por otro lado, se deben mencionar los encuentros científicos financiados dentro de la *European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research: COST 837 y COST 859*. En este marco se organizaron reuniones del tipo “*Plant biotechnology for the removal of organic pollutants and toxic metals from wastewaters and contaminated sites*” y “*Phytotechnologies to promote sustainable land use and improve food safety*”, respectivamente, donde se presentaron más de 50 trabajos relativos al empleo de humedales y fitorremediación.

Finalmente, dentro de los grupos internacionales, destacan los trabajos realizados por el grupo de Biotecnología Medioambiental, del Instituto de Tecnología Federal de Suiza en Laussane, sobre fitorremediación y filtros verdes. Resultan igualmente relevantes los trabajos Schwitzguébel *et al.* (2001; 2002a; 2002b; 2004; 2005) sobre tecnologías en fitorremediación para el control y transformación de contaminantes y sobre límites en la carga microbiana y metales acumulados a través del metabolismo de las especies vegetales empleadas en fitorremediación. También destacan los trabajos desarrollados por el equipo de investigación del Departamento de Ingeniería Sanitaria y

Control de la Contaminación de Agua (IWGA-SIG) de la Universidad de Ciencias Agrícolas de Viena (BOKU), con experiencias similares (Günter *et al.*, 2005), corroborando que la carga de amonio de las aguas tratadas se redujo considerablemente, según los diferentes métodos empleados.

Además de los trabajos mencionados destacan otros donde se han estudiado la eficiencia de estos humedales artificiales teniendo en cuenta diversos factores como aguas residuales de diferente origen, densidad de planta, diferentes especies de planta, diferentes sustratos, carga de nutrientes, caudal hidráulico, entre otros (Finlayson *et al.*, 1987; Cronk, 1996; Tanner *et al.*, 1995a,b; Tanner, 1996; Vymazal 1996; Newman *et al.*, 2000; Kadlec *et al.*, 2000; Spieles y Mitsch, 2000; Lin *et al.*, 2002; Pardue, 2002; Thullen *et al.*, 2002; Karathanasis *et al.*, 2003; Kuschik *et al.*, 2003; Pastor *et al.*, 2003; Hodgson *et al.*, 2004; Poach, *et al.*, 2004; Bigambo y Mayo, 2005; Dunne *et al.*, 2005; García *et al.*, 2005; Klomjek y Nitisoravut, 2005; Murray-Gulde *et al.*, 2005; Akratos y Tsihrintzis, 2007; Calheiros *et al.*, 2007, Gottschall *et al.*, 2007; Korkusuz *et al.*, 2007; Lee y Scholz, 2007; Poach *et al.*, 2007; WetPol, 2007; Li *et al.*, 2008; Kadlec, 2008a; Sindilariu *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; García *et al.*, 2008; Caballero-Lajarán *et al.*, 2009a,b; Calheiros *et al.*, 2009; Fountoulakis *et al.*, 2009; Langergraber *et al.*, 2009; Maine *et al.*, 2009; Pratt *et al.*, 2009; Yeh *et al.*, 2009; Vymazal, 2009a,b; Zurita *et al.*, 2009; Díaz *et al.*, 2010; Kotti *et al.*, 2010; Lavrov y Koumanov, 2010; Wen *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2010; Vymazal, 2011).

D) Diseño de humedales

Los sistemas de humedales artificiales se diseñan con poca profundidad imitando a los humedales naturales, para que tengan lugar los mismos procesos intrínsecos físicos, químicos y biológicos que permiten mejorar la calidad del agua (Hammer *et al.*, 1989). Los humedales artificiales consisten en cuatro componentes principales: plantas, sedimento o suelo, biomasa microbiana y fase acuosa cargada con compuestos químicos. Típicamente los humedales incluyen lechos rellenos con medios clasificados como pobremente drenados y plantas acuáticas. Estos sistemas son generalmente acoplados a balsas de drenaje o limpias, diseñadas para devolver el agua filtrada al medio ambiente.

La selección de las especies vegetales se debe realizar de acuerdo a la adaptabilidad de las mismas al clima local, a su capacidad de transportar oxígeno desde las hojas hasta la raíz, su tolerancia a concentraciones elevadas de contaminantes, a su capacidad asimiladora de los mismos, su tolerancia a condiciones climáticas diversas, a su resistencia a las plagas y enfermedades y a su facilidad de manejo.

La selección del tipo de sustrato se debe realizar de acuerdo a la capacidad depuradora, disponibilidad local y su viabilidad económica.

Hay dos diseños básicos de humedales artificiales cuya finalidad principal es el tratamiento de aguas residuales: humedales de flujo subsuperficial y de flujo superficial. En los humedales de flujo subsuperficial (SSF) el agua puede fluir horizontalmente (paralelo a la superficie) o vertical (en la mayoría de los casos de la capa plantada hacia abajo) a través de la matriz y saliendo del sistema, mientras que en los humedales artificiales de flujo superficial (SF) el agua se mueve sobre la superficie del sustrato. La aplicación y fiabilidad de estos sistemas durante el tratamiento de aguas residuales de origen doméstico ha sido previamente referenciada (Cooper *et al.*, 1996; Sundaravadivel y Vigneswaran, 2001; Griffin, 2003).

La importancia relativa de un proceso particular puede variar significativamente, dependiendo de la contaminación que va a ser tratada, el tipo de humedal (SSF o SF, de flujo horizontal (HF) o de flujo vertical (VF)), del diseño operacional (ej. tiempo de retención), de las condiciones medioambientales, del tipo de vegetación, así como de la matriz del suelo. Para definir un apropiado diseño y parámetros de operación se requieren objetivos claros del tratamiento y una evaluación del caso y extensión de los supuestos procesos de eliminación.

En las **Fotos II.12-24** se muestran imágenes de humedales artificiales que se están usando hoy en día en algunos de los aeropuertos y comunidades pequeñas para la depuración de aguas residuales de origen urbano.



Foto II.12. Depuradora Aeropuerto Alicante.



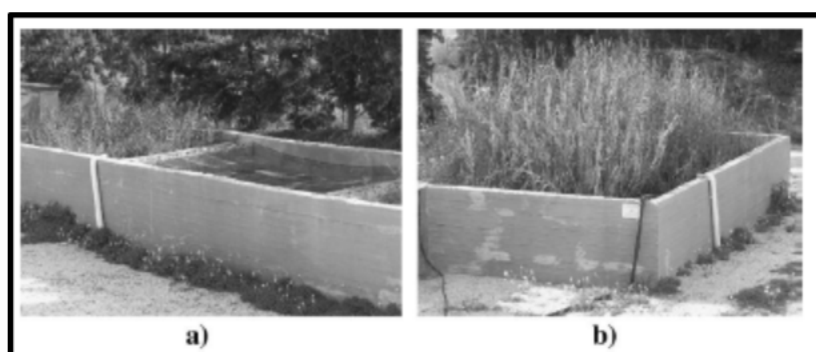
Foto II.13. Depuradora Aeropuerto Vitoria.



Foto II.14. Planta experimental de Carrión de los Céspedes (Sevilla).



Foto II.15. Depuradora Barbadillo (Ávila).



Fotos II.16. a) Humedal artificial de flujo libre de agua superficial. b) Humedal artificial subsuperficial, (Fountoulakis *et al.*, 2009).



Foto II.17. Humedal artificial (Vymazal, 2009c). **Foto II.18.** Humedal artificial (Vymazal, 2011).



Foto II.19. Humedal artificial (Langergraber *et al.*, 2009).



Foto II.20. 4 humedales en secuencia (Mustafa *et al.*, 2009).

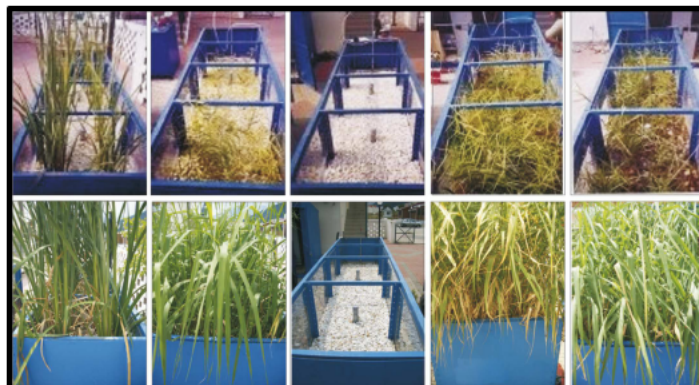


Foto II.21. Humedales artificiales de flujo subsuperficial (Akratos y Tsihrintzis, 2007).



Foto II.22. Humedales artificiales (Kotti *et al.*, 2010).



Fotos II.23 y 24. Humedales artificiales de flujo vertical (La Aljorra- UPCT) (Caballero-Lajarán *et al.*, 2007).

II.3.2. Procesos de eliminación de contaminantes en los humedales artificiales

Hay varias rutas de eliminación que pueden ocurrir en un sistema de humedales artificiales. Kadlec (1992) definió los procesos de volatilización, oxidación fotoquímica, sedimentación, absorción, adsorción y degradación biológica como los principales que afectan a las cargas de compuestos orgánicos en los humedales. Además, procesos tales como la absorción por parte de las plantas y la fitovolatilización, acumulación de contaminantes y transformación metabólica puede ser relevante para algunas plantas y químicos orgánicos (Susarla *et al.*, 2002).

Los procesos de eliminación que ocurren en los humedales pueden ser no destructivos y destructivos.

A) Procesos no destructivos

La mera reducción de la concentración de contaminantes dentro de la fase acuosa vía no destructiva dividiendo procesos, tales como absorción/adsorción y volatilización puede solamente relocalizar la contaminación. Por tanto, la masa se transfiere de contaminantes de la fase acuosa a otras como el suelo o atmósfera; por tanto, se tiene que considerar cuidadosamente cuando se evalúan, las amenazas o peligros potenciales de contaminación.

Volatilización y fitovolatilización: Además de la emisión directa de contaminantes de la fase acuosa a la atmósfera (volatilización), algunas plantas de los humedales asimilan contaminantes a través de los sistemas de raíces y los transfieren a la atmósfera vía transferencia de transpiración, en un proceso referido tal como fitovolatilización (Hong *et al.*, 2001; Ma y Burken, 2003). En el caso de las halófitas, esta transferencia puede también ocurrir vía aerénquima (Pardue, 2002).

La fitovolatilización puede ser de particular relevancia en sistemas de flujo subsuperficial. La volatilización directa es contenida o frenada debido a los lentos porcentajes de difusión de contaminantes a través de las zonas insaturadas, y debida al flujo laminar en zonas del suelo saturadas de agua provocando unas transferencias de masa relativamente más bajas. La volatilización directa de contaminantes suele ser más pronunciada en humedales de flujo superficiales, ya que el agua se mantiene en contacto directo con la atmósfera (Kadlec y Wallace, 2008b).

Asimilación de la planta y fitoacumulación: La fitoacumulación ocurre cuando los contaminantes secuestrados no son rápidamente y completamente degradados o emitidos por la planta, resultando una acumulación en el tejido de la planta (Susarla *et al.*, 2002).

Adsorción y sedimentación: La adsorción de un compuesto químico al suelo o sedimento puede resultar de una adhesión química o física de moléculas a la superficie

del cuerpo sólido o de la división de moléculas disueltas entre la fase acuosa y materia orgánica del suelo. Durante las primeras etapas de la operación de los humedales artificiales, la adsorción sobre el sustrato del suelo naturalmente será más alto debido a la alta capacidad de adsorción del material previamente sin usar (Omar *et al.*, 2003). Siempre y cuando el equilibrio de la adsorción-desorción se acerca, el sistema actúa como un sumidero para los contaminantes. Después de alcanzar unas condiciones constantes, los contaminantes serán aún retenidos por procesos reversibles de adsorción, pero no ocurrirán más pérdidas netas de contaminantes. Esta retención puede incrementar el tiempo de residencia de los contaminantes dentro del humedal artificial y puede apoyar a la biorremediación mediante un aumento de la exposición a la degradación de microorganismos (Pardue, 2002). Sin embargo, los procesos de adsorción pueden también afectar negativamente la biodisponibilidad de contaminantes. La biodisponibilidad ha sido definida como la fracción de compuestos en el suelo que puede ser asimilada o transformada por los organismos vivos.

B) Procesos destructivos

Fitodegradación: El concepto de fitodegradación se define en este contexto como la degradación metabólica o descomposición de contaminantes orgánicos por enzimas de las plantas o cofactores enzimáticos (Susarla *et al.*, 2002). Las transformaciones metabólicas de los diferentes compuestos orgánicos se dan en una gran variedad de plantas (Newman y Reynolds, 2004), incluyendo las plantas típicas de los humedales artificiales como el carrizo (*Phragmites australis*), los bosques latifoliados de espadañas (*Typha latifolia*) y algunas especies de álamos (*Populus sp.*) (Bankston *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2004).

Degradación microbiológica: La naturaleza y extensa degradación microbiológica de compuestos orgánicos en los humedales artificiales depende de las propiedades físico químicas de los contaminantes.

De hecho, la degradación biológica de los compuestos orgánicos a menudo puede explicarse mediante su estructura química, como por ejemplo por la presencia de átomos de carbono, secundarios, terciarios o cuaternarios además de grupos funcionales.

Todos los compuestos clasificados como contaminantes orgánicos persistentes (POPs) en la convención de Estocolmo llevan sustituyentes de cloro (Ritter *et al.*, 1995); por tanto la fragmentación de los enlaces carbono-cloro es de particular interés para la aplicaciones de biorremediación en los humedales artificiales. Reddy y D'Angelo (1997) han discutido caminos e indicadores para la eliminación de compuestos orgánicos tóxicos en los humedales artificiales. De acuerdo con estos autores, la eliminación de tóxicos orgánicos es ampliamente un proceso mediado microbiológicamente y puede ser

subdividido en procesos de degradación aeróbicos y anaeróbicos. Varios autores han referenciado investigaciones sobre la eliminación de compuestos químicos orgánicos en humedales artificiales donde al menos parte de la eliminación de contaminantes se asignó a la degradación microbiológica. Sin embargo, acercamientos indirectos como la cuantificación de procesos de eliminación alternativos (adsorción, volatilización) y simples huecos en los balances de masa sin la identificación del proceso son a menudo aplicados para evaluar la degradación microbiológica.

II.3.3. Potenciales metabólicos de los humedales artificiales

A) Procesos redox en los sistemas a escala de humedales artificiales.

Interfases óxica-anóxica. Las interfases oxícas y anóxicas son dinámicamente establecidas en los humedales como un resultado de las fluctuaciones tabuladas del agua, difusión/advección de oxígeno a través de la columna de agua y suelo, y el transporte activo de oxígeno a través de la rizosfera vía tejidos vegetales (D'Angelo, 2002). Primero, la constitución progresiva gradientes de oxígeno disuelto conduce a la creación de zonas anaeróbicas y aeróbicas adyacentes (Bezbaruah y Zhang, 2004; Wiessner *et al.*, 2005). Luego estas interfases se apropian y adquieren forma mecánicamente y químicamente mediante actividades biogeoquímicas (Burken y Schnoor, 1998).

En la interfase de suelo-agua del suelo mineral del humedal, usualmente se forma una capa delgada de matriz de suelo oxidada, evidente por el color rojizo de los precipitados de óxido de hierro (Chen *et al.*, 1980).

Al contrario, los sedimentos más profundos generalmente permanecen en condiciones anóxicas, un estado reflejado mediante la presencia de formas reducidas de especies sensibles a cambios en el potencial redox (Reddy y D'Angelo, 1997; Diakova *et al.*, 2006). Los compuestos químicos orgánicos suministrados a un humedal artificial están sometidos a procesos de eliminación análogos a lo sucedido de forma natural a la materia orgánica.

D'Angelo y Reddy (1999) mostraron que, entre los factores relevantes del suelo que regulan los porcentajes de potencial y los modos de mineralización de carbono orgánico en los suelos de los humedales, la disponibilidad dadora o aceptora de electrones parece ser esencial.

Procesos de oxidación y reducción

Cuando las condiciones hidrológicas y geoquímicas en un humedal artificial cambian en el espacio y tiempo puede resultar un porcentaje diferente de degradación para los compuestos químicos orgánicos debido a que el electrón presenta una tendencia diferente.

Cuando en los sistemas de humedales artificiales se calcula la probabilidad de que suceda una transformación bioquímica así como su dirección se deben de tener en cuenta algunos aspectos eco-termodinámicas (Hanselmann, 1991; Dolfing y Janssen, 1994).

Por tanto, que una particular ruta suceda, y su relativa contribución, está fuertemente relacionado con las concentraciones de oxígeno y el electrón aceptor alternativo, su disponibilidad y las distribuciones espacio-temporales. En zonas anaeróbicas, los procesos de reducción bióticos y abióticos pueden directamente competir por el consumo de electrones equivalentes con procesos de degradación de reducción de contaminantes orgánicos. La reducción del electrón aceptor alternativo (NO_3^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- y posiblemente FeOOH y MnO_2) en los humedales principalmente depende del tipo del suelo, y de los ratios del electrón dador y aceptor del influente, pero también puede depender de la presencia o ausencia de otra especie aceptora de electrones (Burgoon *et al.*, 1995; Reddy y D' Angelo, 1997).

B) Procesos a escala de la rizosfera

Los humedales artificiales se consideran por ser particularmente valiosos en casos donde la contaminación es inicialmente inaccesible por la rizosfera y puede ser de esencial relevancia cuando las aguas subterráneas contaminadas se dirigen hacia la superficie (Newman *et al.*, 1998; Newman y Reynolds, 2004).

II.3.4. Rutas alternativas de transformaciones de nitrógeno en los humedales

En ambientes acuosos, el nitrógeno amoniacal se puede eliminar por varios mecanismos (Robertson y Kuenen, 1990; Hippen *et al.*, 1997; Strous *et al.*, 1999; Jetten, 2001); el principal mecanismo depende de una combinación de varios factores, tales como las características del agua residual y la disponibilidad de oxígeno. Las principales rutas de transformación del nitrógeno son las siguientes:

- En el proceso de adsorción el nitrógeno amoniacal se transfiere del agua hacia el sustrato del humedal, normalmente sucede priorizando hacia la nitrificación (Connolly *et al.*, 2004).
- El proceso de asimilación en la biomasa, formando parte de la biomasa generada por los microorganismos durante la eliminación de la materia orgánica de aguas residuales cargadas (Sun *et al.*, 2005).
- Nitrificación autrónica, el nitrógeno amoniacal se convierte en nitrito y nitrato mediante bacterias nitrificadores bajo condiciones aeróbicas, pero no contribuyen a la disminución de nitrógeno total, (Cooper *et al.*, 1996).

- Desnitrificación autrófica por bacterias anammox. Bajo condiciones anaeróbicas el ión carbonato sirve como fuente de carbono, el nitrito como el aceptor final de electrones para transformar nitrito y nitrógeno amoniacal en nitrógeno gas o dinitrógeno (N_2) (Strous *et al.*, 1999; Jetten, 2001).
- CANON (Completely Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite). Eliminación de nitrógeno completamente autrófica sobre el nitrito. En un simple paso bajo condiciones aeróbicas pero con condiciones de oxígeno limitado, donde el amoníaco es oxidado primeramente a nitrito, luego este nitrito reacciona con el amoníaco remanente para dar nitrógeno gas o dinitrógeno (N_2) (Sun y Austin, 2007).
- Desnitrificación heterotrófica, mediante la cual nitrato y nitrito se transforman en nitrógeno gas bajo condiciones anaeróbicas con la presencia de carbono orgánico (Kozub y Liehr, 1999).
- Nitrificación heterotrófica/desnitrificación aeróbica: transformación directa de amoníaco a nitrógeno gaseoso (N_2) o especies NO_x sin la producción de NO_2 o NO_3 . Los nitrificadores heterotróficos son también desnitrificadores aeróbicos (Robertson y Kuenen, 1990).
- Oxidación de metano a desnitrificación. Bajo condiciones anaeróbicas, las procariotas convierten el metano con nitrito y nitrato en CO_2 y N_2 (Raghoebarsing *et al.*, 2006).
- Asimilación de nutrientes por las plantas: la directa asimilación por las plantas a través de las raíces como nutriente para ser usado para la síntesis de las células de la plantas (Prescott *et al.*, 2002).

La nitrificación clásica es un proceso en dos pasos: la oxidación de amoníaco a nitrito seguido de la oxidación de nitrito a nitrato bajo condiciones aeróbicas (Cooper *et al.*, 1996; Kadlec y Knight, 1996). El balance de masa de este proceso de nitrificación indica que la masa de nitrógeno amoniacal oxidado debería ser igual a la masa de nitrógeno nitrito y nitrato generado, con un pequeño margen debido al nitrógeno asimilado.

La desnitrificación clásica sucede bajo condiciones anóxicas con carbono orgánico como dador de electrones y nitrato como aceptor de electrones. Teóricamente, el tratamiento de influentes nitrogenados bajo condiciones aeróbicas debería resultar en concentraciones de nitrógeno total de influente y efluente próximas, si la nitrificación clásica predomina y el nitrógeno asimilable que es asimilado es insignificante.

Algunos estudios sobre eliminación de nitrógeno amoniacal han arrojado dudas sobre el tradicional punto de vista de que la eliminación de nitrógeno en los humedales artificiales sigue los mecanismos clásicos (Austin *et al.*, 2003; Shipin *et al.*, 2005). Un estudio de campo llevado a cabo por Bishay y Kadlec (2005) descubrió una considerable disparidad entre la eliminación tradicional química de nitrógeno y la real en un humedal a gran escala, sugiriendo que había una ruta alternativa de nitrificación/desnitrificación que produjo mayores porcentajes de eliminación de nitrógeno amoniacal que en otros humedales. Además de los mecanismos clásicos de transformación del nitrógeno otros como la desnitrificación aeróbica, nitrificación heterotrófica, anammox (oxidación anaeróbica de nitrógeno amoniacal), y oxidación de metano son procesos potenciales en la eliminación de nitrógeno en los sistemas acuáticos ingenieriles (Robertson y Kuenen, 1990; van Loodrecht y Jetten, 1998; Strous *et al.*, 1999; Raghoebarsing *et al.*, 2006). Los nuevos mecanismos de transformación de nitrógeno proveen una explicación teórica del por qué algunos balances de masa de nitrógeno pueden fallar aparentemente a pesar de la cuidadosa ejecución de los protocolos analíticos. Por ejemplo, una cierta cantidad de nitrógeno tiende a desaparecer cuando aguas residuales fuertemente nitrogenadas y carbonadas se tratan (Sun *et al.*, 2003, 2005).

Desde otro punto de vista, este tipo de fallo puede también proveer información útil. Si los análisis demuestran que no se cumple el balance de nitrógeno entre el influente y el efluente, esto puede revelar procesos abióticos tales como la adsorción de nitrógeno amoniacal (Connolly *et al.*, 2004) o precipitación en forma de estruvita ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) en el medio (Wang *et al.*, 2006). El análisis del balance de masa fuerza a un recuento mecánico, incluso provisional, del destino de todo el nitrógeno del influente cuando el nitrógeno del efluente no se recupera mediante los métodos estándar analíticos.

Un estudio previo realizado por Sun *et al.* (1998) sobre el tratamiento de aguas residuales procedentes de la agricultura en humedales de flujo vertical mostró que el aumento de la concentración de nitrato coincidía con un descenso de pH. El perfil de pH indica que la química simple de la nitrificación clásica es inadecuada para describir eliminaciones complejas de nitrógeno en el tratamiento de humedales (Metcalf y Eddy, 2003; Gray, 2004); este resultado fue comparable con los encontrados por Bishay y Kadlec (2005). Sin embargo la variación de pH con el nitrógeno no confirma ni deniega mecanismos de nitrógeno alternativos. Más evidencias convencen que los mecanismos alternativos pueden explicar las pérdidas de nitrógeno total en los humedales porque, teóricamente, la nitrificación vía ruta clásica no debería resultar en ninguna pérdida significativa de nitrógeno total.

II.3.5. Plantas acuáticas: hidrófitas

Muchos investigadores creen que los humedales con planta tienen mayores eficiencias de eliminación de contaminantes comparados con humedales sin planta (Batty y Younger, 2002; Lin *et al.*, 2002; Karathanasis *et al.*, 2003).

En la rizosfera de la vegetación de macrófitas se pueden llevar a cabo complejas interacciones entre los microorganismos y los contaminantes, y la eliminación de contaminantes podría mejorar debido a una mayor actividad microbiológica estimulada por la liberación de compuestos orgánicos a través de las raíces.

Las raíces pueden también ayudar a abrir canales para el agua residual contra las obstrucciones y mejorar la transferencia de oxígeno, la cual es un factor crucial en el desarrollo y diseño de los humedales (Cooper, 2005). Se han usado diferentes plantas para mejorar la eliminación máxima de diferentes tipos de nutrientes como metales pesados de aguas residuales metalíferas. Mitchell y Karathanasis (1995) usaron espadañas (*Scirpus validus*), Ye *et al.* (1997) usaron *Phragmites australis*, mientras que Mungur *et al.* (1997) estudiaron la acumulación de metales pesados en las raíces de cuatro plantas diferentes (*P. australis*, *Typha latifolia*, *Schoenoplectus lacustris* e *Iris pseudacorus*).

Existen dos grupos principales de plantas: las briófitas y las plantas vasculares. Durante todo el proceso evolutivo de estas plantas, algunos helechos y angiospermas, principalmente especies herbáceas, conquistaron el medio acuático, incluyendo en etapas posteriores el ambiente marino.

Las plantas acuáticas han sido muy exitosas en colonizar aguas quietas o corrientes, dulces, salobres y saladas en todas las zonas climáticas. A pesar de que en número de especies no constituye un grupo muy importante, las plantas vasculares acuáticas tienen un gran interés desde el punto de vista botánico.

El cuerpo vegetativo presenta un conjunto importante de modificaciones estructurales, la mayoría de los cuales tiene un claro sentido adaptativo. Además, presentan una gran plasticidad fenotípica lo cual crea serios problemas a los taxónomos. En algunas especies la reducción vegetativa es tan extrema que es imposible distinguir tallo, raíz y hoja.



Foto II.25. Macroalga (*Chara* sp.).



Foto II.26. Briófitas (*Ricciocarpus natans*).



Foto II.27. Helecho (*Azolla caroliniana*). **Foto II.28.** Angiosperma (*Pontederia cordata*).

En las **Fotos II.25-28** se muestran representantes de diferentes grupos evolutivos de macrófitas acuáticas. (Fuente: <http://aquat1.ifas.ufl.edu>).

Las plantas acuáticas vasculares pueden ser descritas por varios términos técnicos, tales como traqueófitas acuáticas o cormófitos acuáticos. En la literatura contemporánea los ecólogos han favorecido el uso de *macrófitas acuáticas* que no tiene un sentido taxonómico preciso. Esencialmente designa macroformas que se distinguen de aquellas planctónicas o bentónicas, por lo tanto incluye musgos, hepáticas, macroalgas y plantas vasculares.

En la clasificación de formas de vida de [Raunkiaer \(1934\)](#) se denomina hidrófitas a todas aquellas plantas cuyas partes vegetativas se encuentran sumergidas o flotando en la superficie del agua, no emergen al aire, y sobreviven a la estación desfavorable por yemas sumergidas unidas o no a la planta parental. Este concepto excluye varias especies que tiene partes sumergidas, pero cuyo sistema foliar es esencialmente aéreo como especies de *Typha* o *Scirpus*.

Según [Den Hartog \(1964\)](#), hidrófitas son plantas que completan su ciclo vegetativo cuando todas las partes vegetativas están sumergidas o sostenidas por el agua (hojas flotantes), o habitualmente se encuentran sumergidas pero se induce la reproducción sexual cuando sus partes vegetativas se secan debido a la emersión. En esta definición es difícil incluir aquellas especies con hojas emergentes. Las hojas emergentes de especies como *Butomus* y *Phragmites* son esencialmente terrestres, tanto su forma como su anatomía, pero sus partes basales (como rizomas, raíces, estolones o raíces) presentan claras adaptaciones morfológicas a un ambiente carente de oxígeno.

La definición propuesta por los botánicos americanos es más amplia y realista, consideran *hidrófitas a todas aquellas plantas que viven en el agua, en suelo cubierto de agua o en suelo saturado de agua*, (Weaver y Clements, 1938). Este concepto fue incorporado posteriormente por Sculthorpe (1967).

A continuación se detalla una clasificación de las formas de vida de las hidrófilas, (Sculthorpe, 1967; Cook, 1990).

A) Hidrófitas fijas al sustrato:

- **Hidrófitas emergentes.** Ocurren en suelos sumergidos o expuestos donde el nivel de la capa freática se encuentra a 50 cm o más de la superficie del suelo. En caso de estar cubierto la columna de agua puede superar 1,50 m. En general son plantas rizomatosas, y las hojas sumergidas o flotantes preceden a la aéreas maduras. Todas cuentan con órganos reproductivos externos. Ejemplos: *Eleocharis sp.*, *Ludwigia sp.*, *Phragmites sp.*, *Schoenoplectus sp.*, *Typha sp.*, *Zizaniopsis sp.*
- **Hidrófitas de hojas flotantes.** Habitan suelos sumergidos en donde la profundidad de la columna de agua alcanza desde los 25 cm hasta los 3.5 m. En las especies con heterofilia, las hojas sumergidas preceden o acompañan las hojas flotantes. Algunas especies cuando la densidad es muy alta forman hojas emergentes. Órganos reproductivos flotantes o aéreos.
Rizomatosas: Las hojas flotantes se disponen en largos pecíolos flexibles. Ejemplos: *Nuphar sp.*, *Nymphaea sp.*
Estoloníferas: Tallos ascendentes en la columna de agua que producen hojas flotantes sobre pecíolos relativamente cortos. Ejemplos: *Potamogeton natans* y *Nymphoides sp.*
- **Hidrófitas sumergidas.** Habitan suelos sumergidos en donde la profundidad de la columna de agua puede alcanzar hasta los 10 o 11 m. Follaje enteramente sumergido con hojas filiformes, fenestradas o finamente divididas. Órganos reproductivos aéreos, flotantes o sumergidos.
Caulescentes: Tallos flexibles con raíces que nacen de algunos de sus nudos. Con o sin rizomas. Ejemplos: *Elodea sp.*, *Egeria sp.*, *Hydrilla sp.*, *Potamogeton sp.*
Roseta: Hojas que nacen de un tallo condensado o rizoma, frecuentemente especies estoloníferas. Ejemplos: *Aponogeton sp.*, *Isoetes sp.* y *Vallisneria sp.*

Taloide: Cuerpo de la planta extremadamente reducido y condensado, sin diferenciación clara entre tallo y hoja. Ejemplos: *Podostemaceae* sp.

B) Flotantes libres.

Ocurren en lugares con escaso movimiento de la columna de agua. Morfología variables, plantas estoloníferas con hojas aéreas o flotantes (*Eichhornia crassipes*, *Limnobium* sp, *Pistia* sp) o plantas pequeñas con una extrema simplificación de su anatomía (*Lemna* sp, *Spirodela* sp, *Wolffia* sp).

Normalmente existe una clara zonación desde las aguas profundas a la orilla: plantas sumergidas, flotantes y emergentes. Algunas formas de vida pueden estar ausentes como el caso de las especies con hojas flotantes. En otros casos el sistema está completamente cubierto por flotantes libres. El límite de distribución de las hidrófitas en profundidad está dado por la transparencia del agua, en lagos claro la profundidad máxima para las especies sumergidas son los 10 m.

En las **Fotos II.29-32**. Se muestran ejemplos de formas de vida de plantas hidrófitas. A. Sumergidas. B. Flotantes enraizadas. C. Flotantes libres. D. Emergentes. (Fuente: <http://aquat1.ifas.ufl.edu>).



Foto II.29. *Egeria densa*.

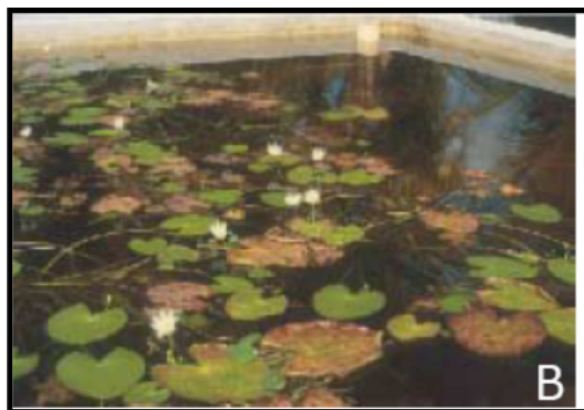


Foto II.30. *Nymphaeoides indica*.



Foto II.31. *Pistia stratiotes*.

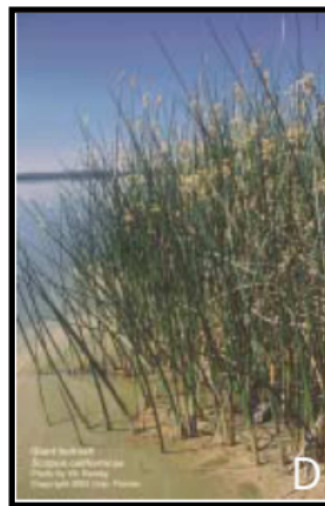


Foto II.32. *Schoenoplectus californicus*.

II.3.6. Microbiología de los humedales artificiales: biofilm, la columna de Winogradsky y tapetes microbianos.

En este apartado se explica la microbiología de los humedales artificiales tomando como referencia los estudios realizados en la columna de Winogradsky y haciendo hincapié en los biofilms y los tapetes microbianos desarrollados tal y como explican Prescott *et al.*, (1999).

A) Biofilm

Las concentraciones de nutrientes en los medios acuosos pueden producir alternancias entre los microorganismos que responden a concentraciones bajas de nutrientes (oligotróficos) y los que responden a concentraciones elevadas (copiotróficos).

La mezcla y el movimiento de los nutrientes, O_2 y productos residuales que se producen en los medios acuosos son los factores dominantes que controlan la comunidad microbiana originando gradientes.

Con niveles de nutrientes bajos, se puede comenzar a observar el desarrollo de *biofilms* sencillos como un factor importante en el crecimiento microbiano. Estos *biofilms* sencillos se desarrollan cuando los microorganismos se adhieren y forman una monocapa de células.

Dependiendo del medio microbiano en particular (luz, nutrientes y velocidad de difusión), estos *biofilms* pueden ser más complejos, con capas de organismos de diferentes tipos. Un ejemplo típico sería el formado por organismos fotosintéticos en la superficie, quimioorganotrofos en el medio, y posiblemente, microorganismos reductores de sulfato en el fondo. La existencia de *biofilms* tiene un gran impacto ambiental y de salud pública.



Foto II.33. Superficie de biofilms.

B) La columna de Winogradsky

Dos famosos microbiólogos fueron pioneros en el estudio de estos procesos: Sergei Winogradsky (1856-1953) y Martinus Willen Beijerinck (1851-1931). La columna de Winogradsky es una demostración clásica de cómo los microorganismos ocupan "microespacios" altamente específicos de acuerdo con sus tolerancias medioambientales y sus necesidades vitales (requerimientos de carbono y energía) y que, además, ilustra cómo diferentes microorganismos desarrollan sus ciclos, y la interdependencia que llega a existir entre ellos (las actividades de un microorganismo permite crecer a otro y viceversa). Esta columna es un sistema completo y autónomo de reciclaje, mantenido sólo por la energía de la luz.

En la columna se distinguen tres ambientes básicos distintos en los que se desarrollan comunidades bacterianas específicas en función de sus requisitos medioambientales.

- En la parte más profunda de la columna: (**zona anaerobia** sin oxígeno), hay dos tipos de organismos que pueden crecer en condiciones anaerobias: los que fermentan la materia orgánica o los que realizan la respiración anaerobia. La fermentación es un proceso en el que los compuestos orgánicos son degradados de forma incompleta (por ejemplo, las levaduras fermentan los azúcares a alcohol). La respiración anaeróbica es un proceso en el que los sustratos orgánicos son completamente degradados a CO₂, pero usando una sustancia distinta del oxígeno como aceptor terminal de electrones. Algunas bacterias, por ejemplo, utilizan nitratos o iones sulfato en vez del oxígeno.

Por tanto en esta zona suele haber una alta concentración de SH₂, apareciendo varios grupos diferentes de bacterias como *Amoebobacter sp* o *Clostridium sp*.

- Un poco por encima, (**zona intermedia**) se encuentran las bacterias reductoras del azufre, que se visualizan como una profunda capa negra y están representadas por *Desulfovibrio sp*. Estas bacterias pueden utilizar estos subproductos de la fermentación para su respiración anaerobia, usando sulfato, u otras formas parcialmente oxidadas de azufre como el tiosulfato, generando grandes cantidades de H₂S en el proceso. Este H₂S reaccionará con cualquier hierro presente en el sedimento, produciendo sulfuro ferroso, que da color negro. Es por esto que los sedimentos acuáticos son frecuentemente negros. Sin embargo, no todo el H₂S es utilizado, ciertas cantidades difunden hacia arriba a lo largo de la columna de agua y son utilizados por otros organismos que crecen en las zonas superiores.

En una primera franja, las bacterias verdes del azufre (como *Chlorobium sp*) procesan los sulfatos a azufre y aparecen en una franja verdosa. En otras zonas cercanas, bacterias como *Gallionella sp* procesan el hierro formando una capa negra que se forma justamente por debajo de la anterior. Un poco más arriba, algo más alejadas por tanto de las altas concentraciones de sulfhídrico se desarrolla una zona de bacterias púrpuras del azufre, como *Chromatium sp*, caracterizada por su color rojo-púrpura.

Estas bacterias del azufre, verdes y púrpuras, obtienen energía de las reacciones luminosas y producen su biomasa a partir de CO₂. En gran medida, de manera muy similar a cómo lo hacen las plantas aunque, sin embargo, hay una diferencia esencial: no producen oxígeno durante la fotosíntesis porque no utilizan H₂O como elemento reductor sino H₂S. Las ecuaciones simplificadas que siguen muestran el paralelismo de ambos procesos:



Un poco por encima de esta zona nos encontramos una franja de bacterias púrpuras no del azufre, como *Rhodospirillum sp* y *Rhodopseudomonas sp*, que adquiere un color rojo-anaranjado. Su mayor o menor abundancia dependerá de la cantidad de sulfhídrico que se haya producido y de la cantidad que, no utilizada por otros organismos, difunda hacia arriba, ya que su presencia inhibe a estas bacterias. Son anaerobios fotoorganotrofos que sólo pueden realizar la fotosíntesis en presencia de una fuente de carbono orgánico.

- La parte superior de la columna de agua (**zona aerobia, rica en oxígeno**), puede contener abundantes poblaciones de bacterias de diferentes tipos. Son organismos aerobios, suelen ser flagelados, lo que les permite moverse y establecerse en nuevas áreas. Esta es la parte de la columna más rica en oxígeno y más pobre en azufre. Sin embargo, también aquí llegarán por difusión, procedentes de zonas inferiores, ciertas cantidades de H₂S que será oxidado a sulfato por bacterias que oxidan azufre (como *Beggiatoa sp* y *Thiobacillus sp*). Estas bacterias obtienen energía oxidando el H₂S a azufre elemental y sintetizan su propia materia orgánica a partir de CO₂. Por esto se les llama quimoautótrofas. En las zonas superiores pueden crecer también cianobacterias fotosintéticas, lo que se visualizaría como un tapete de césped de color verde. Estas bacterias se caracterizan por ser las únicas que realizan una fotosíntesis similar a la de las

plantas. Existen tres fuentes posibles de oxígeno disuelto en los humedales artificiales que incluyen la superficie de aireación, fotosíntesis y la transferencia de oxígeno por parte de la planta. La actividad de los nitrificadores ha estado documentada en biofilms asociados con la rizosfera de las plantas acuáticas del humedal (Williams *et al.*, 1994). La rizosfera de la planta es un hábitat apropiado para los nitrificadores. La liberación de oxígeno por parte de las raíces estimula la nitrificación.

Por otro lado, el oxígeno y el dióxido de carbono, dos gases importantes presentes en el agua, crean también gradientes de concentración.

- El oxígeno es soluble en el agua sólo moderadamente. Su solubilidad depende de la concentración en la fase de gas, la temperatura del agua, la presión atmosférica y las sales disueltas. La temperatura y la presión especialmente, controlan la cantidad de oxígeno disponible por los microorganismos. A temperaturas inferiores, la concentración de O_2 puede ser notablemente más elevada. Puede producirse un agotamiento rápido del O_2 disuelto cuando los nutrientes contaminan el agua.
- El segundo gas más importante en el agua, el CO_2 tiene funciones importantes en los procesos químicos y biológicos. El equilibrio entre el dióxido de carbono, bicarbonato y carbonato puede controlar el pH en aguas débilmente tamponadas, o puede ser controlado por el pH de aguas fuertemente tamponadas. El pH de agua destilada, que no está tamponada, está determinado por el dióxido de carbono disuelto en equilibrio con el aire, y es aproximadamente de 5,0 a 5,5. En comparación el agua fuertemente tamponada a pH 8,0 contiene CO_2 absorbido del aire, que está presente principalmente como bicarbonato (HCO_3^-). Cuando microorganismos autótrofos, como las algas, utilizan CO_2 , aumentará el pH en muchos tipos de agua.

C) Tapetes microbianos. Los microorganismos como agentes de biorremediación.

Los tapetes microbianos son unos ecosistemas, ampliamente distribuidos en las zonas litorales, que se han mostrado como prometedores agentes para la biorremediación ya que, dadas sus características, agrupan, en un espacio de pocos milímetros, complejas poblaciones de microorganismos aerobios y anaerobios capaces de colonizar zonas altamente contaminadas. Una aproximación muy útil para evaluar tanto el impacto de una contaminación de estas características sobre la diversidad microbiana, como los procesos de biodegradación que pueden tener lugar en este tipo de comunidades, es reproducirlas de manera miniaturizada en el laboratorio. El verdadero

valor de estos sistemas modelo o microcosmos, es que nos proporcionan un instrumento para comprender la función del ecosistema y los factores que controlan el flujo de energía y materia, permitiendo, por tanto, el desarrollo de una capacidad predictiva imprescindible a la hora de desarrollar estrategias útiles de biorremediación.

Los tapetes microbianos son unos ecosistemas naturales donde microorganismos pertenecientes a diferentes grupos fisiológicos se agrupan en unos pocos milímetros de espesor. En ellos pueden establecerse complejas comunidades microbianas que se estratifican en profundidad, dependiendo de los abruptos gradientes de luz, oxígeno, sulfhídrico y potencial redox que se generan, y de su propia fisiología; de manera que a nivel macroscópico, pueden observarse una serie de laminaciones de diferentes colores en función de la composición taxonómica que presentan (Cohen *et al.*, 1984; Cohen y Rosenberg, 1989; Stahl y Caumette, 1994). Las capas superficiales consisten en poblaciones fototróficas oxigénicas, de cianobacterias y algas eucariotas, principalmente. En dichas laminaciones las bacterias heterotróficas consumen materia orgánica y oxígeno. Por debajo de éstas, si las condiciones son adecuadas, se sitúan las capas anaeróbicas dominadas por bacterias anaeróbicas fototróficas y heterotróficas.

Este tipo de comunidades, debido a su estructura física, son capaces de soportar perturbaciones tales como un episodio de contaminación ocasionado por un vertido de petróleo. Tanto es así que, numerosos estudios han puesto de manifiesto que los tapetes microbianos no sólo se desarrollan en ambientes marinos no contaminados; sino que también se encuentran en lugares sujetos a una contaminación crónica.

La idea de utilizar los tapetes microbianos para la **biorrecuperación** de las zonas litorales contaminadas surgió a raíz de diversas observaciones realizadas durante la guerra del Golfo en 1991, (Martínez-Alonso y Gaju, 2005). Dichos ecosistemas rápidamente cubrieron extensas áreas severamente contaminadas con petróleo y en pocos meses se observó la degradación de hidrocarburos, tanto aeróbica como anaeróbicamente. Diferentes investigaciones hablan de la degradación de hidrocarburos por las cianobacterias (Raghukumar *et al.*, 2001). Además, se ha visto que tapetes microbianos localizados en zonas litorales contaminadas tienen la capacidad de degradar petróleo, aunque no se han identificado las poblaciones responsables de la metabolización de los compuestos de petróleo (Abed *et al.*, 2002; Grötzschel *et al.* 2002).

No hay duda de que las cianobacterias tienen un papel crucial en los tapetes, ya que son los responsables del establecimiento de los gradientes de oxígeno y de la síntesis de materia orgánica que utilizan las bacterias heterotróficas. De todas maneras,

no está claro si son las cianobacterias o las bacterias heterotróficas las responsables directas de la biodegradación de los componentes del petróleo.

Diversas investigaciones postulan que las cianobacterias tienen la capacidad de oxidar hidrocarburos. Al-Hasan *et al.*, (1998) mostraron que cultivos no axénicos de *Microcoleus chthonoplastes* y *Phormidium corium* aislados a partir de sedimentos contaminados del Golfo de Arabia eran capaces de degradar *n*-alcanos. Estudios en *Oscillatoria* sp. y *Agmenellum quadruplicatum* demostraron su capacidad de oxidar naftaleno (Cerniglia *et al.*, 1979, 1980).

Además, hay otros trabajos que muestran la capacidad de muchas otras cepas de degradar diversos componentes del petróleo (Yan *et al.*, 1998, Radwan y Al-Hasan, 2000, Raghukumar *et al.*, 2001; Mansy y El-Bestway, 2002). Sin embargo, en la mayor parte de estudios realizados con cianobacterias no está claro si los cultivos utilizados son axénicos. En este sentido, se han realizado diversas investigaciones donde las bacterias heterotróficas asociadas a las cianobacterias son las responsables de la biodegradación. Estos autores postulan que las cianobacterias por sí mismas no serían las responsables directas de la degradación de los componentes del petróleo, pero probablemente juegan un papel esencial indirecto soportando el crecimiento y la actividad de los verdaderos degradadores (Abed *et al.*, 2005; Sorkhoh *et al.*, 1995).

II.4. LEGISLACIÓN.

A continuación se expone la normativa relacionada con la actividad de depuración de efluentes ganaderos; teniendo en cuenta el uso del purín depurado para fertilización, junto con otras actividades que pudieran sucederse, relacionadas con este tipo de sistemas, recopilada por [Sánchez-García \(2012\)](#). Así, en función de la actividad a desarrollar, la legislación expuesta (enumerada del 1 al 38) se desglosa en:

- Fertilización de suelo agrícola: 7, 9, 11, 13, 16, 31, 34, 35 y 38.
- Valorización de residuos: 14, 17, 25 y 27.
- Depuración de aguas residuales urbanas: 8 y 13.
- Instalación de sistemas de depuración: 19 y 23.
- Metodología de toma de muestras y análisis: 5, 20, 22 y 33.
- Vertido: 15, 21, 26, 29, 30, 32, 36 y 37.
- Dominio Público Hidráulico: 1, 2, 6, 10, 12, 13, 18 y 24
- Alcantarillado: 33.
- Mar: 3, 4, 5 y 28.

Destacar que el listado de legislación se encuentra ordenado por fecha y temática, es decir, las leyes de desarrollo y modificación se presentan junto con la ley principal en un mismo epígrafe. Así mismo, al final de los epígrafes se muestra en verde la normativa comunitaria cuya trasposición dio origen a la normativa estatal.

Nota: se han utilizado abreviaturas para simplificar y acortar la lectura del epígrafe; véase: **RD** = Real Decreto, **D** = Directiva, **>** = desarrollada por, **>>** = derogada por.

A) Legislación nacional e internacional

1) RD 849/1986, de 11 de abril, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, que desarrolla los títulos preliminar I, IV, V, VI y VII de la Ley 29/1985 de Aguas; modificado posteriormente por el RD 1315/1992*, de 30 de octubre y por RD 606/2003**, de 23 de mayo, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, que desarrolla los Títulos preliminar, I, IV, V, VI y VIII de la Ley 29/1985 de Aguas; complementado con la Orden MAM/1873/2004, de 2 de junio, por la que se aprueban los modelos oficiales para la declaración de vertido y se desarrollan determinados aspectos relativos a la autorización de vertido y liquidación del canon de control de vertidos regulados en el Real Decreto 606/2003.

*[D 80/68/CEE, de 17 de diciembre >> D 2006/118/CE en 22/12/2013].

**[(D 2000/60/CE, de 23 de octubre > Decisión 2455/2001/CE) >> DMA 2013].

2) Orden de 12 de noviembre de 1987, sobre normas de emisión, objetivos de calidad y métodos de medición de referencia relativos a determinadas sustancias nocivas o peligrosas contenidas en los vertidos de aguas residuales; junto con las subsiguientes ordenes de modificación y complementación en 13 de marzo de 1989, 27 de febrero de 1991, 28 de junio de 1991 y 25 de mayo de 1992. Quedan derogados la sección B de los anexos II al XVI, sección C del anexo II y de los anexos IV al XVI, y sección D del anexo II. Derogada completamente por el RD 60/2011 a partir del 22 de diciembre de 2012.

3) Ley 22/1988, de 28 de julio, de Costas; complementada por el RD 1471/1989, de 1 de diciembre por el que se aprueba su reglamento general para desarrollo y ejecución, modificado a su vez por el RD 1112/1992. Los anexos I, II y III de la ley quedan derogados por el RD 60/2011.

4) RD 258/1989, de 10 de marzo, por el que se establece la normativa general sobre vertidos de sustancias peligrosas desde tierra al mar. Quedan derogadas las secciones B y C del anexo I y el anexo II. El anexo I quedará derogado completamente por el RD 60/2011 a partir del 22 de diciembre de 2012.

[(D 76/464/CEE > 86/280/CEE) >> D 2006/11/CE, de 15 de febrero].

5) Orden de 31 de octubre de 1989, por la que se establecen normas de emisión, objetivos de calidad, métodos de medición de referencia y procedimientos de control relativos a determinadas sustancias peligrosas contenidas en los vertidos desde tierra al mar. Quedan derogadas las secciones B y C de los anexos II al XVI, y sección D de los anexos II al XII. Derogada por completo por el RD 60/2011 a partir del 22 de diciembre de 2012.

6) Orden de 19 de diciembre de 1989, por la que se dictan normas para la fijación en ciertos supuestos de valores intermedios y reducidos de coeficiente K, que determinan la carga contaminante del canon de vertido de aguas residuales.

7) RD 1310/1990 de 29 de octubre, que regula la utilización de lodos de depuradora; desarrollada por la Orden de 26 de octubre de 1993 sobre utilización de lodos de depuradora en agricultura.

[D 86/278/CEE, de 12 de junio].

8) RDL 11/1995, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas; desarrollado por el RD

509/1996, de 15 de marzo; el cual se modifica en última instancia por el RD 2116/98, de 2 de octubre.

[D 91/271/CEE, de 21 de mayo > D 98/15/CE, de 27 de febrero].

9) RD 261/1996, de 16 de febrero, relativo a la protección contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias.

[D 91/676/CEE, de 12 de noviembre].

10) Resolución de 25 de mayo de 1998, por la que se declaran las “zonas sensibles”, en las cuencas hidrográficas intercomunitarias. Complementada por la Resolución de 24 de marzo de 2011 y la Resolución de 30 de junio de 2011.

11) RD 324/2000 de 3 de marzo, por el que se establecen las normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas, modificado por el RD 3483/2000 de 29 de diciembre.

12) Ley 10/2001, de 5 de julio, del Plan Hidrológico Nacional; modificada por el RDL 2/2004, de 18 de junio y la Ley 11/2005, de 22 de junio.

13) RDL 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas; modificado por el RDL 4/2007, de 13 de abril y por el RD 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas; y complementada por el RDL 12/2011, de 26 de agosto.

14) Orden MAM/304/2002, de 8 de febrero, por la que se publican las operaciones de valorización y eliminación de residuos y la lista europea de residuos.

[Decisión 2000/532/CE, de 3 de mayo > Decisiones 2001/118, 2001/118 y 2001/576/CE].

15) Ley 16/2002, de 1 de Julio, de prevención y control integrados de la contaminación (IPPC).

[D 96/61/CE, de 24 de septiembre > D 2003/35/CE, D 2003/87/CE, Reglamento 1882/2003 y Reglamento 166/2006].

16) RD 1429/2003, de 21 de noviembre, por el que se regulan las condiciones de aplicación del Reglamento CE 1774/2002, en materia de subproductos de origen animal no destinados al consumo humano; de conformidad con el Real Decreto 1131/2010, de

10 de septiembre, por el que se establecen los criterios para el establecimiento de las zonas remotas a efectos de eliminación de ciertos subproductos animales no destinados a consumo humano generados en las explotaciones ganaderas.

[Reglamento 1774/2002, de 3 de octubre > Reglamento 808/2003 + Decisión 13 mayo 2003].

17) RD 824/2005, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes.

18) Orden MAM/985/2006, de 23 de marzo, por la que se desarrolla el régimen jurídico de las entidades colaboradoras de la administración hidráulica en materia de control y vigilancia de calidad de las aguas y de gestión de los vertidos al dominio público hidráulico.

19) Ley 9/2006, de 28 de abril, sobre evaluación de los efectos de determinados planes y programas en el medio ambiente.

[D 2001/42/CE, de 27 de junio].

20) Orden MAM/3207/2006, de 25 de septiembre, por la que se aprueba la instrucción técnica complementaria MMA-EECC-1/06, determinaciones químicas y microbiológicas para el análisis de las aguas.

21) RD 907/2007, de 6 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de la Planificación Hidrológica. Queda derogado el artículo 26.6. El anexo IV quedará derogado por el RD 60/2011 a partir del 22 de diciembre de 2013.

22) Orden MAM/85/2008, de 16 de enero, por la que se establecen los criterios técnicos para la valoración de los daños al dominio público hidráulico y las normas sobre toma de muestras y análisis de vertidos de aguas residuales.

23) RD Legislativo 1/2008, de 11 de enero, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Evaluación de Impacto Ambiental de proyectos; modificado por la Ley 6/2010 de 24 de marzo.

[(D 85/337/CEE > D 97/11/CE >> D 2011/92/UE, de 13 de diciembre)].

24) RD 1514/2009, de 2 de octubre, por el que se regula la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro.

[D 2006/118/CE, de 12 de noviembre].

25) Real Decreto 949/2009, de 5 de junio, por el que se establecen las bases reguladoras de las subvenciones estatales para fomentar la aplicación de los procesos técnicos del Plan de biodigestión de purines; modificado por el RD 1255/2010 y complementado por la Orden ARM/1840/2010.

26) Ley Orgánica 5/2010, de 22 de junio, por la que se modifica la Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre, del Código Penal.

[D 2008/99/CE, de 19 de noviembre]

27) RD 865/2010, de 2 de julio, sobre sustratos de cultivo.

28) Ley 41/2010, de 29 de diciembre, de protección del medio marino.

29) RD 60/2011, de 21 de enero, sobre normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas.

[D 2008/105/CE, de 16 de diciembre].

30) Ley 22/2011, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados, que sustituye a la Ley 10/1998, de 21 de abril de 1998, de residuos; de conformidad con el RD 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados.

[D 2008/98/CE, de 19 de noviembre].

B) Legislación autonómica de la Región de Murcia

31) Orden de 31 de marzo de 1998 de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua por el que se aprueba el Código de Buenas Prácticas Agrarias de la Región de Murcia; complementado por la Orden de 3 de diciembre de 2003, de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, por la que se aprueba el Código de Buenas Prácticas Agrarias de la Región de Murcia.

32) RD 1664/1998, de 24 de julio, por la que se aprueban los planes hidrológicos de cuenca.

33) Decreto 16/1999, de 22 de abril, sobre vertidos de aguas residuales industriales al alcantarillado.

34) Orden de 20 de diciembre de 2001, por la que se designan las zonas vulnerables (Campo de Cartagena) a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia; complementada por la Orden de la Consejería de Agricultura de 3 de marzo de 2009, por la que se establece el programa de actuación sobre la zona vulnerable correspondiente a los acuíferos cuaternario y plioceno en el área definida por zona regable oriental del trasvase Tajo-Segura y el sector litoral del Mar Menor; modificada por la Orden de 27 de junio de 2011, de la Consejería de Agricultura y Agua.

35) Orden de 22 de diciembre de 2003, por la que se designan las zonas vulnerables (Vega Alta y Media del Río Segura) a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia; complementada por la Orden de la Consejería de Agricultura de 19 de noviembre de 2008, por la que se establece el programa de actuación sobre la zona vulnerable correspondiente a los acuíferos de las Vegas Alta y Media de la cuenca de Río Segura; modificada por la Orden de 27 de junio de 2011, de la Consejería de Agricultura y Agua.

36) Decreto Legislativo 1/2005, de 10 de junio, por el que se aprueba texto refundido de la Ley del Suelo de la Región.

37) Ley 4/2009, de 14 de mayo, de Protección Ambiental Integrada de la Región de Murcia.

38) Orden de 26 de junio de 2009, de la Consejería de Agricultura y Agua por la que se designa la zona vulnerable a la contaminación por nitratos de Valle del Guadalentín, en el término municipal de Lorca; complementada por el programa de actuación desarrollado por la Orden de 27 de junio de 2011.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

III.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.

III.1.1. Localización y descripción geográfica.

La comarca del Alto Guadalentín ocupa el área suroccidental de la Región de Murcia, en contacto directo con la Andalucía oriental (provincia de Almería). Tiene una extensión de 2071,8 km² e incluye los municipios de Lorca (1675,3 km²), el de mayor extensión de la Región que da nombre a la comarca, Águilas (251,8 km²) y Puerto Lumbreras (144,8 km²).

En el 2012 el censo de población fue 142.435 personas lo que significa, dada su gran extensión, una densidad media de 68,7 h/km² muy inferior a la media regional. (<http://www.ine.es/>).

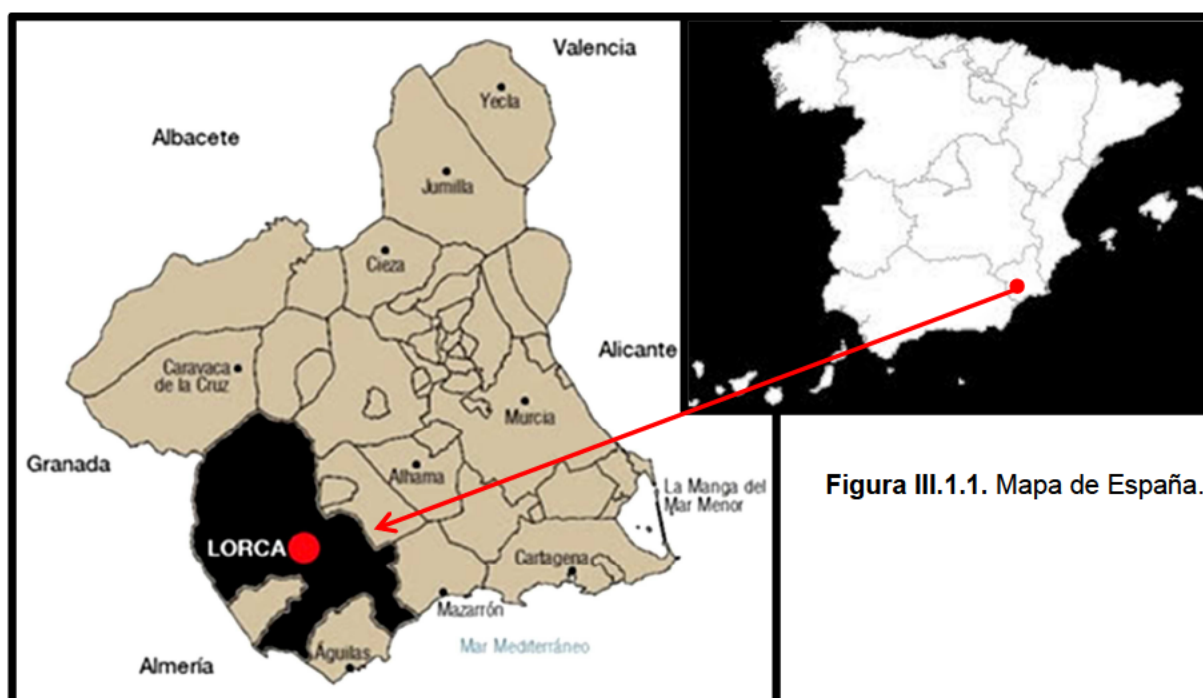


Figura III.1.1. Mapa de España.

Figura III.1.2. Localización de Lorca en la Región de Murcia.

Es muy notable la diversidad de espacios y paisajes geográficos asociada a su gran extensión y a la configuración del territorio, organizado, en síntesis, en tres grandes sectores: las tierras altas, el corredor central y las sierras y llanuras costeras. La capital de la comarca es la ciudad de Lorca, que contaba en 2012 con 92.865 personas habitantes. Águilas sobresale como ciudad costera y Puerto Lumbreras como cruce de caminos.

El sistema de depuración de efluentes porcinos ha sido construido en el Centro Integrado de Formación y Experiencias Agrarias (CIFEA), perteneciente al término municipal de Lorca. Este centro se localiza más específicamente en las coordenadas 37° 39' 14" 16" N, 1° 41' 12" 33" O (Data SIO, NOAA U.S. Navy. NGA GEBCO, 2010).



Foto III.1. Ubicación de CIFEA, (Tele Atlas Google, 2010).

A continuación se expone una breve descripción de la comarca según [González-Ortiz, 2007](#) publicada en el “*Atlas Global de la Región de Murcia*”.

La comarca está estructurada en tres sectores de relieve bien diferenciados: las altas tierras septentrionales, la depresión prelitoral limitada por rebordes montañosos, y las sierras y llanuras costeras.

Las altas tierras septentrionales forman una amplia cuenca de margas y arcillas del Mioceno y Plioceno siempre por encima de los 500 metros, por la que discurre la red hidrográfica de cabecera del río Guadalentín, enmarcada por una serie de alineaciones montañosas modeladas sobre materiales subbéticos (sierras del Gigante, del Almiraz, de Labia, del Cambrón y del Madroño, entre otras). Esta alta cuenca limita en el sur con una serie de elevaciones constituidas por un anticlinal de materiales más antiguos (Bético Alpujárride) que forman el reborde interior de la depresión prelitoral.

La depresión prelitoral está formada por varias unidades topográficas, destacando la sierra de la Torrecilla, la peña Rubia y la sierra de la Tercia. Entre estas dos últimas, el anticlinal se hunde, lo que es aprovechado por el río Guadalentín para penetrar en la depresión prelitoral. Ése es también el lugar de ubicación de la ciudad de Lorca. La depresión prelitoral murciana constituye el tramo más oriental del rosario de cuencas que forman el llamado surco intrabético. Es un plano inclinado desde los 465 metros de

Puerto Lumbreras, en el extremo occidental, hasta los 23 metros de Orihuela en el noreste.

En la comarca queda ubicado el sector occidental de esta fosa, por la que discurre el río Guadalentín, formando un extenso valle relleno de materiales neógenos y cuaternarios, que se continúa por tierras de Almería y Totana. Al sur de Puerto Lumbreras la cuenca queda dividida en dos por la sierra de Enmedio (topónimo alusivo a su situación). La fosa prelitoral se haya limitada al sur por la cordillera litoral, un arco montañoso continuo en dirección suroeste noreste de estructura muy compleja, donde aparecen los materiales más antiguos de la Región. De este gran arco parte, en dirección oeste-este, una serie de alineaciones que llegan hasta la costa y compartimentan la llanura costera de Águilas, de modo que se trata de pequeños llanos separados por sectores montañosos y profundamente abarrancados por los cursos de agua esporádicos y torrenciales que desembocan directamente en el Mediterráneo ([González y Sánchez, 1981](#)).

III.1.2. Condiciones climáticas.

La escasez e irregularidad de las lluvias, unido a las elevadas temperaturas, produce una notable aridez, característica esencial del clima comarcal y factor condicionante de la agricultura, su base económica tradicional.

Las temperaturas aumentan de norte a sur y son relativamente bajas en las tierras altas septentrionales, especialmente las del mes de enero, lo que genera una gran oscilación térmica. Ascenden bruscamente en la fosa prelitoral, alcanzándose en Lorca unas temperaturas más elevadas. Águilas, en el sector costero, registra las temperaturas, tanto medias como de los meses extremos, más altas de la Región, y al mismo tiempo la menor amplitud por influencia del mar.

Las lluvias van disminuyendo conforme nos acercamos a la costa. Águilas con 177,3 mm de precipitación media anual es, junto con cabo Tiñoso en la comarca de Cartagena, uno de los observatorios que registran menores precipitaciones, no sólo del sureste, sino de toda la Península y de Europa. Estas precipitaciones, como en todo el mediterráneo, se distribuyen a lo largo del año en dos máximos, uno de primavera y otro de otoño, con una sequía estival, extremada en esta comarca.

Las lluvias caen en forma de fuertes aguaceros en muy pocos días (alrededor de 20 en todo el año). Es frecuente que en un solo día, y en pocas horas, la lluvia se aproxime e incluso supere los 100 mm, cayendo en un solo chaparrón más de la mitad de la lluvia de todo el año, como ocurrió el 22 de octubre de 1948. En menos de cinco horas el pluviómetro de Puerto Lumbreras registró 240 mm. Ello produjo una impresionante avenida del Guadalentín.

Otro rasgo destacado de las lluvias comarcales es su gran diferencia de un año para otro, lo que supone un gravísimo obstáculo para la agricultura. Las sequías pueden prolongarse mucho y cuando llueve, con frecuencia lo hace torrencialmente, lo que perjudica generalmente a los cultivos. La escasez de precipitaciones y la alta evaporación (por las elevadas temperaturas) origina una gran aridez, que se agudiza hacia el sur (González Ortiz, 1999).

Para este periodo estudio la temperatura media anual ha sido 17 °C, la precipitación media anual registrada ha sido 307 mm y evapotranspiración potencial ha sido 1246 mm/ año (AEMET, 2012).

III.1.3. Recursos hidrográficos.

El río Guadalentín es el eje hidrográfico principal de la comarca. Se forma en el pantano de Puentes por la confluencia de ríos y ramblas (Chirivel, Vélez o Corneros, Luchena). El tramo superior de su red hidrográfica constituye una enorme cuenca de recepción en forma de abanico, semejante a la de un torrente, que desagua en la depresión, formando un amplio cono de deyección sobre el que se ha instalado la huerta de Lorca. Aquí se incorpora el sistema Nogalte-Béjar-Viznaga que drena el sector suroccidental de la Depresión Prelitoral. El rasgo más destacado de este río es la violencia de las crecidas extraordinarias, que han producido terribles catástrofes aguas abajo, en la reunión con el Segura, en la huerta de Murcia. Estas avenidas suelen ser siempre de cabecera y se explican por la combinación de una serie de factores: la torrencialidad de las precipitaciones, la disposición en abanico de los afluentes de cabecera, que determina la llegada simultánea de la onda de crecida al lugar de confluencia, el predominio de materiales arcillosos y margosos impermeables, lo que unido a la fuerte pendiente, colabora en la rapidez del desagüe, y por último la escasa protección vegetal, fruto de la aridez del clima y de la acción humana, que ha de forestado el territorio.

Estos mismos factores explican otro rasgo destacado del Guadalentín, sobre todo en su tramo alto: el gran poder erosivo y de arrastre. Buena prueba de ello es que las presas de los pantanos de Puentes y Valdeinfierno han tenido que ser recrecidas en repetidas ocasiones, ya que los aterramientos las hacían prácticamente inservibles. Asimismo, frente a Lorca han aparecido acequias musulmanas enterradas a 8 m de profundidad. Como contrapartida, el Guadalentín es un río de escasísimos caudales de cabecera, que son consumidos en el regadío de Lorca. Con mucha frecuencia el caudal es nulo aguas abajo de esta ciudad, mientras que en las más intensas crecidas se ha calculado un caudal de 4.000 m³/s. Fuera de la red hidrográfica del Guadalentín, al sur de la alineación litoral, existe una serie de ramblas (Los Arejos, El Cañerete, El Charcón, Los

Pinares, El Ramonete) que drenan las escasas e irregulares lluvias de esta área y desembocan directamente en el Mediterráneo ([González-Ortíz, 2003](#)).

Los suelos de esta comarca son generalmente esqueléticos y escasos en materia orgánica como consecuencia de las escasas precipitaciones, la potencia de las radiaciones solares sobre una superficie desprovista de vegetación y las lluvias torrenciales. Es muy frecuente que los bruscos chaparrones, ayudados por la fuerte pendiente y la deforestación, hayan arrancado el suelo vegetal, dejando aparecer la roca madre en forma de litosuelo. La vegetación natural está fuertemente alterada en la comarca. Fue muy pronto atacada por el desmonte, pastoreo y carboneo, agudizándose la situación en el siglo XVIII, al roturarse lo que hasta ese siglo habían sido "propios". De este modo, el pino carrasco sustituyó a los antiguos carrascales y el tomillar a la garriga, que hoy sólo quedan como residuales en pocos parajes. El atochar alcanza también gran desarrollo, como vestigio de la importancia que tuvo en la postguerra ([González-Ortíz y Sánchez, 1981](#)).

III.2. MATERIALES DEL SISTEMA DE DEPURACIÓN.

Foso subterráneo (1): construido en hormigón para el almacenamiento de purines. Está conectado a la explotación con capacidad de acuerdo al volumen generado, en cuyo interior se encuentra colocado el agitador de purines y la bomba de alimentación 1.



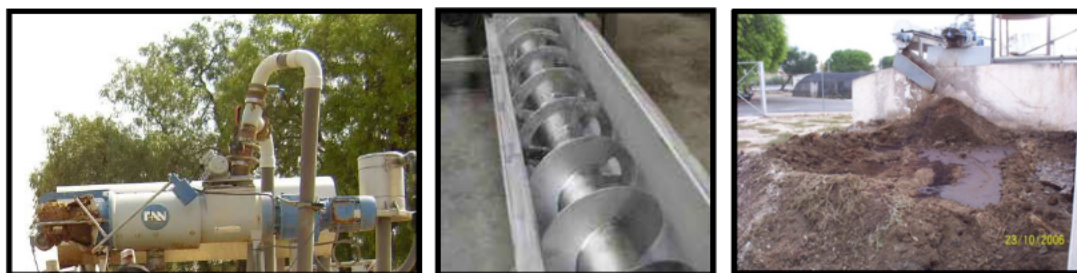
Fotos III.2, 3 y 4. Variedad de cerdos. Foso subterráneo.

Agitador de purines: tipo GTWS- 44 (Westfalia- Separator Eisele): sumergible, e imprescindible para lograr la homogeneización y oxigenación de la balsa de recepción de purines. Está accionado por un motor trifásico de 380 V/ 50Hz, con una potencia de 5,5 Kw/h y protección IP68. La carcasa es de hierro fundido a presión, mientras que el árbol y la tornillería son de acero inoxidable. Tiene una hélice de dos palas de gran rendimiento y un turbina en su extremo libre, que inyecta aire en el efluente a la vez que agita el purín al mover la hélice. El aire es conducido hasta la turbina por medio de una manguera de caucho de 5 cm de diámetro y que llega hasta la superficie, pudiendo regular la entrada de aire mediante un cuarto de giro de su boca anaranjada. Incluye además un bastidor para el motor agitador, anclajes, guías y fijaciones a la pared (con posibilidad de alzar, bajar o girar el agitador) con grúa incorporada, todo ello, al igual que el aparato anterior en hierro grueso y galvanizado al fuego. Además posee una caja de mandos individualizada.

Bomba de alimentación 1: de la serie AT (Westfalia- Separator Eisele), sumergible, con una carcasa de hierro fundido a presión, mientras que el árbol motor y tortillería son de acero inoxidable. Posee un poderoso motor trifásico de 380 V/ 50 Hz, con una potencia de 7,5 Kw/h, funcionando a 1500 rpm. Sistema de protección IP68. En este tipo de bombas, la unión entre el árbol, rotor y mecánica está fabricada en carburo de silicio. Presenta “conexión rápida” a mangueras. Esta versión de bomba (AT) tiene un rotor con triturador, mecanismo muy necesario para el tratamiento de residuos con pajas o con fibras largas. Este tipo de bomba tiene en sus prescripciones técnicas unos caudales de entre 3900 a 5700 L/min. Además esta bomba incluye un bastidor, anclajes y fijaciones con grúa incorporada, todo ello en hierro grueso y galvanizado al fuego.

Separador de fases (2): de los diferentes modelos de separadores de fases sólido-líquido, disponibles en el mercado, se optó por el de tipo “compacter” o “separador de tornillo sinfín”. El separador de tipo “compacter” o separador de tornillo sinfín”, es adecuado para explotaciones con gran volumen de efluentes a tratar, y está basado en un sistema de separación por prensa a rosca. Su rendimiento por unidad de tiempo, en este ensayo (entre 5- 6 m³/h) lo hace indicado para grandes explotaciones ganaderas, que por otra parte son las que pueden abordar un mayor nivel de inversión económica.

El separador de tipo compacter con tamiz cilíndrico y tornillo sinfín de la marca Westfalia- Separador, consta de un bastidor de fundición gris y provisto de patas de acero para su anclaje. En la obra civil necesaria se encuentra el equipo de separación, con unas dimensiones de 975 mm de altura, 2070 mm de longitud y 525 mm de ancho. Su peso aproximado es 450 Kg. Está formado por un tamiz cilíndrico, con un taladro de 0,5 mm., y a éste se encuentra incorporado un tornillo sinfín. Todo esto construido en acero inoxidable con revestimiento antidesgaste.



Fotos III.5, 6 y 7. Separador de fases de tornillo sinfín.

El accionamiento del tamiz cilíndrico y del tornillo sinfín se realiza mediante un motor trifásico de 380 V/50Hz, de 4 kw/h de potencia, con aislamiento clase B y protección IP54, sin sondas térmicas ni enchufe. Este tipo de separador sólo tiene una parte móvil, el tornillo sinfín, que gira lentamente, a unas 30- 35 revoluciones por minuto, y que hace pasar al purín a través de la criba o tamiz cilíndrico que es capaz de soportar los cambios de concentración del efluente con el que se le alimenta, mediante un sistema de retorno al depósito de recepción de purines. Además, este equipo incluye una unidad vibradora que va colocada encima del bastidor y que su misión es la de favorecer la separación de fases y está accionada por un motor trifásico de 380 V/50 Hz, de 0,15 Kw/h de potencia. Este equipo de separación tiene un caudal nominal de procesamiento de purines de entre 4 y 6 m³/h, mientras que en el presente ensayo se han obtenido cifras medias comprendidas entre 5 y 6 m³/h.

Armario eléctrico: adecuado para el arranque y parada de la bomba de alimentación, y de todo el equipo de separación (motor del tornillo sinfín y vibrador).

Muretes: de hormigón para albergar la fracción sólida.

Depósito 1 con discos de aireación (3): depósito de hormigón, de forma cilíndrica, y con una capacidad máxima de 11.000 L. Este depósito está provisto de un sistema de aireación. El aireador de fase líquida, es un compresor portátil de la marca JOSVAL. Se acciona mediante motor eléctrico trifásico de 380V/50Hz. Este aireador trabaja con un caudal de 5800 L/min y una presión de 10 Bar. Está formado por un calderín de 100 L y un sistema de tuberías de PVC con orificios de 1 mm equidistantes entre sí a lo largo de su circunferencia. Mediante la acción de un compresor de aire y través de estas tuberías se inyecta el aire a esta fase, durante 12 horas al día y 3 días seguidos. Los discos de salida de aire están colocados en el foso de aireación a unos 50 cm del fondo y con los orificios mirando hacia el suelo para evitar en la medida de lo posible la entrada de lodos o partículas que los obstruyan.



Fotos III.8, 9 y 10. Depósito 1 con discos de aireación.

Juego de mangueras: coarrugadas compuesto de dos piezas de 5 m de longitud cada una y de 100 mm de diámetro con sistema de “conexión rápida”. Por una de ellas entra la bomba de alimentación y el “compacter”, siendo la otra el sistema de retorno que el equipo posee, desde el “compacter” a la balsa de purines.

Espesador de fangos (Biopolym Ibérica) (4): Está constituido por un cuerpo en acero inoxidable, de una malla montada en un tambor rotativo en acero inoxidable, y de un sistema de autolimpieza de la malla. El dispositivo cuenta con una zona de espesamiento, una zona de caída, un motor y un reductor.



Fotos III.11, 12, 13 y 14. Espesador de fangos.

Depósito 2 de decantación (5): depósito de hormigón, de forma cilíndrica, y con una capacidad máxima de 11.000 L y volumen de líquido aprovechable en torno 7000 y 8000 L.



Fotos III.15, 16 y 17. Limpieza de depósitos

Bomba de alimentación 2: situada en el interior del depósito 2. Minibomba de impulsión para el vaciado del depósito de la fase líquida hacia los humedales artificiales, modelo UT- 8, con motor trifásico 380V/50Hz de 0,75 Kw/h de potencia y con un caudal de 4 m³/h.



Fotos III.18, 19 y 20. Depósito 2 y bomba.

Elementos de conducción: tuberías de PVC



Fotos III.21 y 22. Limpieza de espesador y Tuberías de conducción.

Humedal artificial de flujo horizontal en discontinuo: (6) Los humedales artificiales de flujo sub-superficial horizontal, son zanjas impermeabilizadas de láminas de polietileno de alta densidad (HDPE) que se llenan con un lecho de material poroso, inerte, que puede tener un tamaño de partícula variable o uniforme. Los materiales de relleno inertes usados comúnmente para este fin son arena y grava. Además de actuar como un filtro, el

lecho de material inerte constituye también el sustrato sobre el que se desarrollan las raíces de los macrófitos emergidos usados para la fitodepuración.

El diseño del humedal artificial de flujo horizontal en discontinuo es el siguiente:

- Número de humedales artificiales estudiados: 6
- Longitud de la zanja: 27 m y delimitado por bordillos de hormigón.
- Impermeabilización con láminas de polietileno de alta densidad (HDPE).
- Profundidad: 100 cm.
- Ancho en profundidad: 200 cm.
- Ancho en superficie: 250 cm.
- Gavión para desbaste **(7)**: corresponde al primer metro de los 27 m de longitud, en el extremo del inicio de la zanja y relleno de grava de 4 y 8 mm de diámetro de tamaño y 100 cm en profundidad.
- Longitud de plantación: 26 m.
- Material de relleno en la zona de plantación:
 - 3 humedales con una capa de 80 cm de profundidad de grava de entre 23 y 40 mm de diámetro y una capa superficial de arena de 20 cm. Las gravas empleadas son carbonatos hidratados de metales alcalinos y metales alcalinotérreos.
 - otros 3 humedales con dos capas de grava. La más profunda es de 40 cm de profundidad con un diámetro de grava de entre 23 y 40 mm. La capa superior tiene 40 cm de profundidad de entre 4 y 8 mm de diámetro de grava. Por encima hay una capa superficial de arena de 20 cm de entre 0,06 y 4 mm de diámetro. Las gravas empleadas son carbonatos hidratados de metales alcalinos y metales alcalinotérreos.
- Planta seleccionada **(6)**: *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.
- Densidades de plantación estudiadas: 2 humedales sin planta, 2 humedales con 5 plantas por metro cuadrado y 2 humedales con 10 plantas por metro cuadrado.
- Pendiente en profundidad: 1 %.
- Testigo **(8)**: tubo hueco de hormigón incrustado en los 20 cm de capa de arena y usado como testigo para visualizar el llenado de los humedales.
- Arqueta de recogida de efluentes **(9)**: 150 cm de ancho, 250 cm de largo, 100 cm de profundidad y delimitado por bordillos de hormigón.
- Llaves de paso: entrada y salida del efluente en el humedal artificial.



Fotos III.23-34. Excavación, impermeabilización, contador de agua, gavión, llaves de paso, testigo y plantación.



Fotos III.35, 36 y 37. Arqueta de recogida impermeabilizada y llave de vaciado.



Fotos III.38 y 39. Humedales artificiales y balsa.



Fotos III.40, 41, 42 y 43. *Phragmites australis* plantada en el humedal.

Bomba de alimentación 3: Minibomba de impulsión portátil para el desagüe de la arqueta del humedal artificial, modelo UT- 8, con motor trifásico 380V/50Hz de 0,75 Kw/h de potencia y con un caudal de 4 m³/h.

Balsa de almacenamiento (10): impermeabilizada con láminas de polietileno de alta densidad (HDPE), delimitada con bordillos de hormigón de 10 m de ancho, 5 m de largo y 2 m de profundidad.



Fotos III.44, 45, 46 y 47. Balsa abierta de recogida de efluentes.

III.3. DISEÑO GRÁFICO.

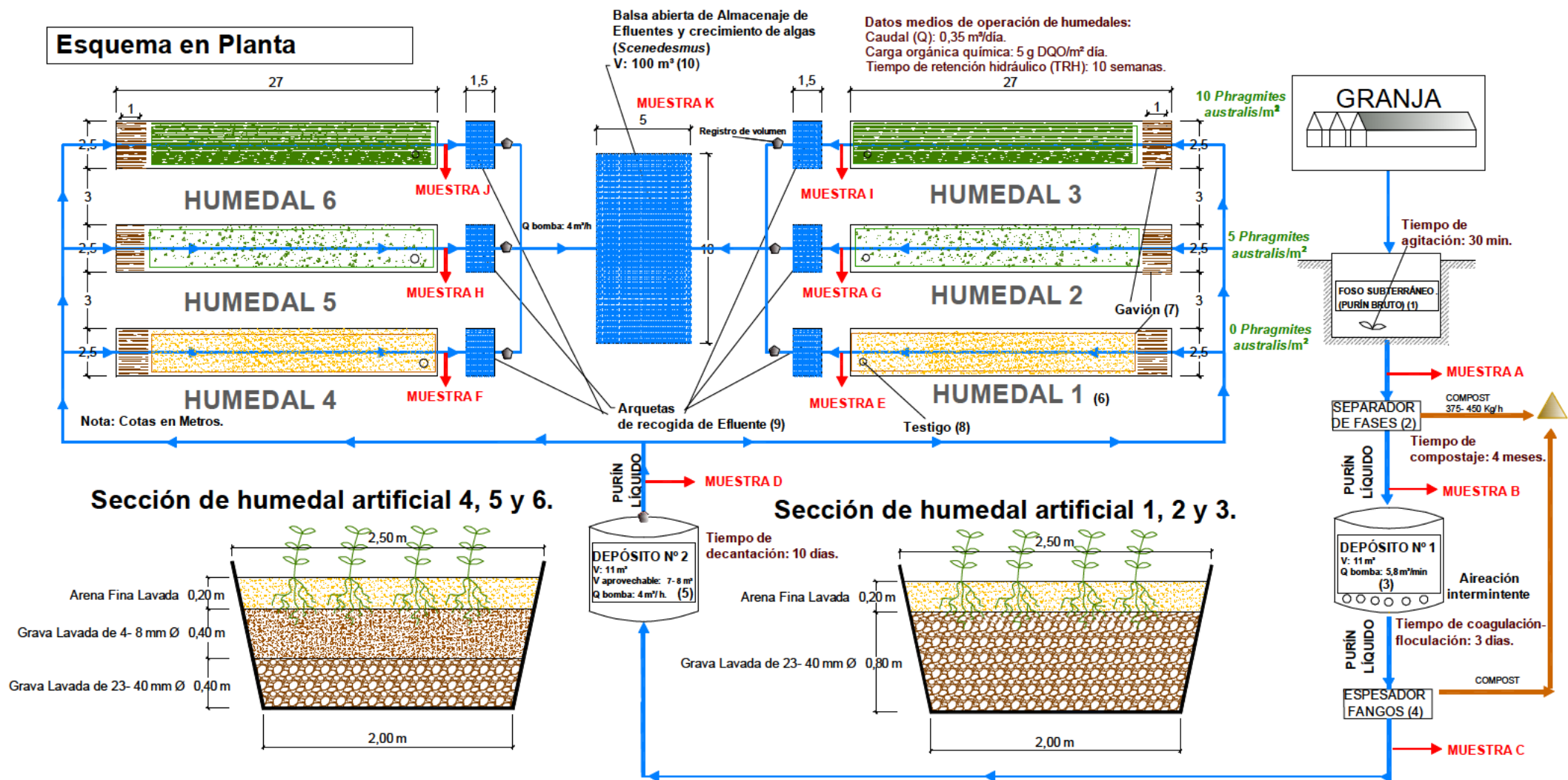


Figura III.3.1. Diseño del sistema de depuración.

III.4. FUNCIONAMIENTO Y MUESTREO.

A) Funcionamiento

Esta experiencia se inició el 8 de mayo de 2006 y finalizó el 14 de diciembre de 2010. La mayor parte del purín bruto utilizado procedió de la granja experimental del CIFEA en un 80%, mientras que en el 20% restante lo fue de explotaciones porcinas de ciclo cerrado de la comarca de Lorca.

Antes de poner en marcha el separador de fases, se puso en marcha el agitador de purines situado en el depósito receptor, durante al menos media hora, con el fin de homogeneizar los purines depositados, y además, facilitar y optimizar el trabajo posterior del separador o “compacter”.

El sistema de alimentación de este separador es de tipo continuo mediante una bomba sumergible, tal y como se ha descrito en el **Apartado III.2** y cuyo caudal puede ser regulado mediante una llave de accionamiento manual que lleva incorporado el separador de fases a la entrada del tornillo sinfín, y además, una toma de agua supletoria regulada por una llave (manual) por si el producto entrante era demasiado espeso.

De esta manera, los purines brutos entran a presión al cuerpo cilíndrico del separador, y después de una primera separación en un filtro o malla especial, el concentrado de sólidos pasa por un tornillo sinfín a un filtro cilíndrico, mientras, el resto del volumen de purín que no pudo ser procesado en ese momento retornó al depósito de recepción de purines, por medio de una manguera de igual calibre que la que alimentó el separador. El filtro cilíndrico consiste en una serie de varillas de acero inoxidable agrupadas con una distancia entre ellas de 0,5 mm, expulsando a través de estos orificios los líquidos (fase líquida).

La fase sólida, que permanece en el interior del cilindro es comprimida contra el “regulador de expulsión”, pudiéndose modificar su contenido en agua mediante la colocación de pesas en un brazo de palanca exterior de dicho regulador, variando así la humedad con que se obtiene esta fase sólida. Mediante la acción del separador sobre el purín en bruto, se obtienen dos fases:

Fase sólida: con este tipo de separador y el purín empleado en este ensayo, que contiene menos del 10 % de materia seca, se obtienen por término medio, entre 375 y 450 kg/ h de trabajo, (Lobera, 1996; Lobera *et al.*, 1998).

La fase sólida se somete a compostaje aproximadamente una media de cuatro meses y se emplea como abono.

Fase líquida: que con este tipo de separador y el purín empleado, que contiene menos del 10 % de materia seca, se obtienen por término medio, entre 5000 y 6000 L/h.

Esta fase líquida es conducida, mediante una tubería de PVC, al depósito 1 descrito anteriormente (**Apartado III.2**). En este depósito se inyecta el aire a esta fase, mediante la acción de un compresor de aire. Con esto, lo que se intenta crear son unas condiciones aerobias que permitan el desarrollo de una flora bacteriana (*Nitrosomonas sp* y *Nitrobacter sp*) que degrade el nitrógeno orgánico y amoniacal presente en los purines de cerdo y los transforme a nitratos. También se favorece el proceso de floculación y coagulación de las partículas en suspensión cuyo proceso se representa en la **Fig. III.4.1**.

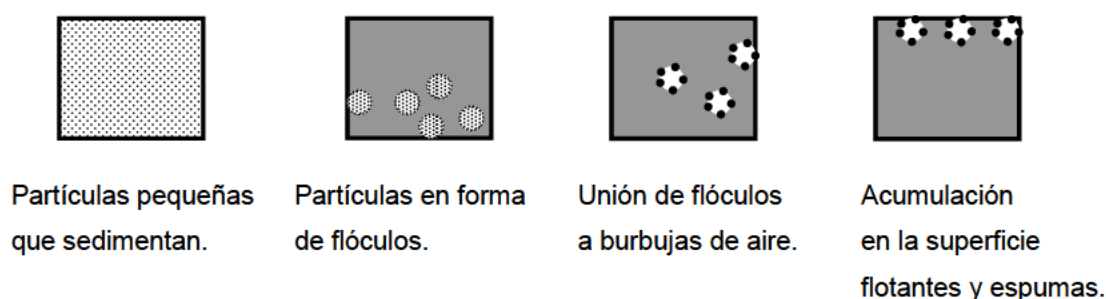


Figura III.4.1. Pasos que intervienen en el proceso flotación.

Después de 3 días esta fase líquida se hace pasar por un espesador de fangos. Los fangos se desplazan al interior del tambor y salen con una concentración muy superior a la inicial. El proceso está automatizado y monitorizado. Los sólidos más finos retornan acumulándose junto con los otros obtenidos anteriormente y la fase líquida se almacena en el depósito 2 donde se deja decantar 10 días, eliminándose de esta manera la mayor parte de los sólidos existentes en el purín bruto.

Una vez decantado el efluente líquido se utiliza para el llenado del humedal artificial mediante la acción de una bomba y la apertura de llave de entrada hasta su capacidad máxima, el cual previamente ha sido vaciado del procesado anterior, pues el humedal nunca queda vacío. Para la detección del volumen alcanzado se dispone de un tubo hueco de hormigón incrustado en los 20 cm de capa de arena y usado como testigo para visualizar que el llenado se ha realizado correctamente. Por otro lado, también se dispone de medidores de volumen para el registro del volumen procesado en cada momento.

El volumen que puede ser procesado por el humedal depende de sus dimensiones, el volumen ocupado por grava y el grado de desarrollo de la planta. Teniendo en cuenta las dimensiones de las zanjas (**Fig. III.3.1.**), el volumen en ausencia de gravas y arena sería:

$$27 \text{ m (largo)} \times 0,80 \text{ m (profundidad)} \times (2+ 2,5)/2 \text{ m (ancho)} = 48,6 \text{ m}^3$$

En este caso, en los dos primeros años el volumen que es capaz de procesar el humedal fue aproximadamente un tercio del volumen total en ausencia de material de relleno y una sexta parte cuando las raíces de la planta estuvieron más desarrolladas, es decir entre 16,2 y 8,1 m³. El flujo del efluente líquido porcino fue intermitente, en lotes, con una carga hidráulica media (calculada en función al volumen aportado), de 0,35 m³/día y una carga orgánica de 5 g DQO/m²/día. No obstante, el tiempo de retención hidráulica fue un factor de estudio a evaluar, de manera que cada humedal funcionó con un tiempo de retención hidráulica diferente, como se explica más adelante. Después del tiempo de retención seleccionado, el humedal se vacía por gravedad abriendo una llave a través de un tubo situado casi a la altura del fondo. El efluente líquido pasa a una arqueta y después por acción de una bomba se conduce a una balsa de almacenaje donde predomina un proceso de desnitrificación disminuyendo la concentración de nitratos, especialmente.

B) Muestreo

Por cada tratamiento al que se le sometió el purín, se tomó muestra (**Fig. III.3.1.**) por triplicado en viales de polietileno de 50 mL ([APHA-AWWA-WPCF, 1992](#)) los cuales se conservaron a 4°C en un frigorífico (Anexo fotográfico, **Fotos VII.1 y 2**), para sus respectivos análisis físico-químicos y microbiológicos. Durante este estudio se recogieron 1305 muestras correspondiendo (ver **Figura III.3.1**):

- 264 muestras de purín bruto de la fosa subterránea, (**muestra A**).
- 264 muestras tras el separador de fases, (**muestra B**).
- 264 muestras tras aireación-espesador de fangos, (**muestra C**).
- 264 muestras tras la decantación, (**muestra D**).
- 192 muestras tras los humedales artificiales, (**muestras E, F, G, H, I y J**).
- 57 muestras de la balsa abierta de almacenamiento con microalgas, (**muestra K**).

Por tanto, la frecuencia de muestreo fue de acuerdo a la selección de los diferentes tiempos de retención hidráulica explicados en el **apartado III.6**.

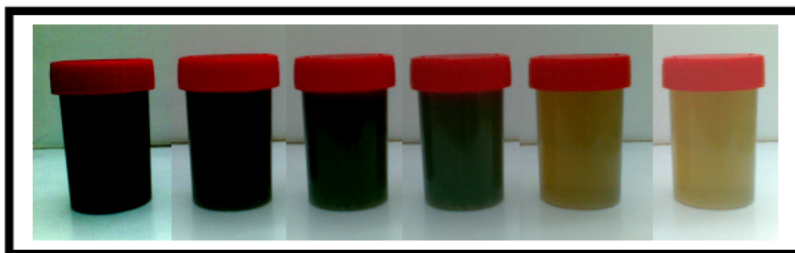


Foto III.48. Aspecto de las muestras A, B, C, D, J y K respectivamente.

III.5. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS.

III.5.1. Análisis físico-químicos.

A) Temperatura (T).

Las variaciones de temperatura del agua puede dañar la vida acuática. También puede afectar la habilidad del agua para retener oxígeno y la habilidad de los organismos para resistir ciertos tipos de contaminantes (Swanson, y Baldwin, 1965).

La medida de temperatura expresada en °C de la muestra previamente agitada fue directa en el momento de su toma en campo, y para ello se utilizó un sensor de temperatura acoplado al equipo portátil HANNA Instrument modelo HI 9025 (Anexo fotográfico, **Foto VII.3**) (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

B) Potencial redox (Eh).

El potencial redox es una medida de la actividad de los electrones. Está relacionado con el pH y con el contenido de oxígeno. La medida de potencial redox de la muestra (APHA-AWWA-WPCF, 1992), previamente agitada, expresada en milivoltios (mV) fue directa en el momento de su toma en campo, y para ello se utilizó un electrodo acoplado al equipo portátil HANNA Instrument modelo HI 9025 (Anexo fotográfico, **Foto VII.3**).

El Eh se determina potenciométricamente mediante un electrodo indicador inerte, comúnmente de oro-platino, y un electrodo de referencia (plata/cloruro de plata). El potencial redox es el voltaje medido entre los dos electrodos y es proporcional a la relación de la concentración de los constituyentes reducidos y oxidados presentes en la solución. Las reacciones redox engloban la transferencia de electrones desde una especie reducida (electrón donante) y la especie oxidada (electrón receptor). Después de completarse la reacción de óxido-reducción, la especie que se redujo comienza a oxidarse y la especie que fue oxidada empieza a reducirse por la transferencia de electrones (Kolthoff *et al.*, 1969).

Es importante tener en cuenta que el Eh es sólo un indicador de los procesos que ocurren en la solución ya que las mediciones redox son difíciles de interpretar en términos químicos fundamentales. Puede ser útil como un indicador de un ambiente químico, y junto con otros factores como el pH, puede denotar si un metal estaría en forma soluble o precipitado (Snoeyink y Jenkins, 1980).

Un valor Eh positivo y de alta magnitud es indicativo de un ambiente que favorece las reacciones de oxidación. Por el contrario, un valor Eh negativo y de baja magnitud es indicativo de un ambiente altamente reductor.

C) Potencial Hidrógeno (pH).

En 1909, el químico danés Sorensen definió el potencial hidrógeno (pH) como el logaritmo negativo de la concentración molar (más exactamente de la actividad molar) de los iones hidrógeno:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

La medida de pH de la muestra previamente agitada (APHA-AWWA-WPCF, 1992) fue directa en el momento de su toma en campo, y para ello se utilizó un electrodo acoplado al equipo portátil HANNA Instrument modelo HI 9025 (Anexo fotográfico, **Foto VII.3**). Se calibró el electrodo con disoluciones patrón (tampones) de pH conocido según las instrucciones del fabricante.

Para las medidas de pH se utilizan pH-metros que contienen un potenciómetro provisto de un electrodo de pH combinado y otro electrodo de temperatura con el que se realizan las mediciones. El pH-metro establece el pH midiendo el potencial generado (en mV) por el electrodo de vidrio que es sensible a la actividad del ión H^+ ; el potencial es comparado con un electrodo de referencia, que produce un potencial constante e independiente del pH. El electrodo de referencia empleado es el de calomelano saturado con KCl, que permite el paso del potencial generado hacia el circuito de medición, haciendo las funciones de puente salino. La cadena electroquímica de este sistema de medición es:



D) Conductividad eléctrica (CE).

La conductividad eléctrica es una medida de la propiedad que poseen las soluciones acuosas para conducir la corriente eléctrica. Esta propiedad depende de la presencia de iones, su concentración, movilidad y valencia, y de la temperatura de la medición. Las soluciones de la mayor parte de los compuestos inorgánicos son buenas conductoras. Esta determinación indica la concentración total de componentes ionizados en las distintas soluciones. La conductividad eléctrica es proporcional al contenido de sales disueltas y, por tanto, está directamente relacionada con la suma de cationes o aniones que se determinen químicamente y en general, presenta una estrecha correlación con los sólidos totales disueltos. Las medidas varían dependiendo de la temperatura, por lo que se estandariza a 25°C.

El método consiste en medir la mayor o menor facilidad que presenta una solución para conducir la corriente eléctrica, lo que guarda una relación directa con la mayor o

menor cantidad de sales disueltas que contenga. Como unidad de medida se emplea el siemens:

$$1\text{dS/m} = 1\text{ mS/cm} = 1\text{ mmhos/cm}.$$

La medida de conductividad eléctrica de la muestra previamente agitada (APHA-AWWA-WPCF, 1992) fue directa en el momento de su toma en campo, y para ello se utilizó un electrodo acoplado al equipo portátil HANNA Instrument modelo HI 9025 (Anexo fotográfico, **Foto VII.4**). Se introdujo la célula de conductividad en la muestra y se esperó hasta que la lectura se estabilizó.

E) Sólidos Totales en Suspensión (STS).

Una muestra (1 mL) previamente homogeneizada se filtró por acción de una bomba a vacío Vacuum Brand (Anexo fotográfico, **Foto VII.5**), mediante un filtro estándar de fibra de vidrio (Whatman 934-AH; tamaño de retención de partículas de 0,45 µm), previamente tarado en seco en una balanza analítica modelo 4101 (Anexo fotográfico, **Foto VII.7**). El residuo retenido en el mismo se secó en una estufa (Anexo fotográfico, **Foto VII.9**), durante 1 h a 103-105 °C y después permaneció en un desecador (Anexo fotográfico, **Foto VII.10**), hasta peso constante. El aumento de peso de filtro representa los sólidos totales en suspensión y se expresó en mg/L (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

$$\text{STS (mg/L)} = [(A-B)]/\text{Volumen de muestra (L)}$$

A: peso de residuo seco + filtro (mg)

B: tara del filtro (mg)

F) Sólidos Sedimentables (SS).

Se llenó un cono de Imhoff (Anexo fotográfico, **Foto VII.11**) con la muestra bien homogeneizada, hasta la marca de 1 L. Se dejó sedimentar durante 45 minutos, removiendo a continuación suavemente las paredes del cono con una varilla o mediante rotación. Se mantuvo en reposo durante 15 minutos más y se registró el volumen de sólidos sedimentados en la parte inferior del cono y se expresó en mg/L, (APHA-AWWA-WPCF, 1992).

G) Sólidos disueltos totales (STD).

Es el peso de las sales disueltas de una muestra de agua obtenidas por evaporación de un volumen de agua previamente filtrada. Se puede obtener una rápida estimación del contenido de sólidos totales disueltos del agua mediante medidas de conductividad eléctrica (Sawyer and McCarty, 1978).

Para la mayoría de las aplicaciones agrícolas existe una relación directa entre los valores de conductividad eléctrica y los de STD con una precisión en torno al 10 %. (Mc Graw Hill, 1995). Se puede determinar mediante la siguiente fórmula (Ayers y Westcot, 1984):

$$\text{STD (mg/L)} = \text{CE } (\mu\text{S/cm}) \text{ a } 25\text{ }^{\circ}\text{C} \times 0,64 \text{ para aguas de conductividad } \leq 5.000 \mu\text{S/cm} \text{ (1)}$$

$$\text{STD (mg/L)} = \text{CE } (\mu\text{S/cm}) \text{ a } 25\text{ }^{\circ}\text{C} \times 0,80 \text{ para aguas de conductividad } > 5.000 \mu\text{S/cm} \text{ (2)}$$

En nuestro caso, se ha aplicado la fórmula (2) ya que la conductividad eléctrica de las muestras superó los 5 dS/m.

H) Demanda Bioquímica de Oxígeno en cinco días (DBO₅).

Expresa el grado de contaminación de un agua residual por materia orgánica degradable por oxidación biológica. El agua residual contiene una cierta flora bacteriana, que tras un tiempo de incubación, actúa degradando la materia orgánica contenida en el agua residual. Si cierta cantidad del agua a analizar se introduce en un recipiente, y éste se cierra herméticamente, se crea un sistema que contiene el agua a analizar, con su flora bacteriana y aire, el cual contiene un 21% de oxígeno. En un tiempo determinado, los microorganismos consumen todo o parte del oxígeno contenido en el sistema al degradar la materia orgánica, liberando una cierta cantidad de CO₂ gaseoso. Suponiendo que se inhibe la nitrificación y que se retira del sistema el CO₂ producido, la depresión que se registra en el sistema se deberá exclusivamente al descenso de la presión parcial del oxígeno, como consecuencia del consumo de oxígeno en la oxidación biológica de la materia orgánica.

De esta manera se procedió a la medida de DBO₅, mediante determinación manométrica con sensor de presión, en un periodo de incubación de cinco días en biómetros diseñados a tal efecto (UNE-EN 1899-1, 1998; UNE-EN 1899-2, 1998). La captación del CO₂ gaseoso producido se efectúa por reacción con NaOH (2-3 lentejas), que ha de disponerse al comienzo del ensayo en una cápsula diseñada a tal efecto. Se utilizó el equipo OXITOP WTW e incubador Velp FTC 90. Este análisis se debe realizar lo antes posible debido a que se mide la presencia de microorganismos presentes y éstos son muy sensibles a cualquier variación (Anexo fotográfico, **Foto VII.13 y 14**).

Se midió en una probeta un volumen de muestra elegido según la DBO₅ esperada. Así, el resultado obtenido del quinto día, deberá multiplicarse por el factor correspondiente al volumen seleccionado. Según las instrucciones del fabricante, en la **tabla III.1** se muestran los volúmenes a tomar según el valor esperado:

Tabla III.1. Volumen de muestra necesario según el valor esperado de DBO₅ y correspondiente factor para el cálculo del resultado.

Valor esperado (mg/L)	Volumen de muestra (mL)	Factor
0-4000	22,7	100
0-2000	43,5	50
0-800	97	20
0-400	164	10
0-200	250	5
0-80	365	2
0-40	432	1

En algunos casos, para muestras muy concentradas, que excedieron el límite superior de detección (valor superior a 50 según los tapones Oxitop), aún con el volumen mínimo referenciado (22,7 mL), fue necesario realizar una dilución de la muestra con suero Ringer. Cada 100 mL suero Ringer de solución contiene 0,85 g de cloruro de sodio, 0,04 g de cloruro de potasio y 0,034 g de cloruro de calcio dihidrato. Dichas diluciones se hicieron con suero Ringer y no con agua destilada, para asegurar que las bacterias responsables de la oxidación siguen sus pautas normales de digestión de la materia orgánica, no viéndose influenciadas negativamente por procesos osmóticos externos.

En la botella con un agitador magnético en su interior, se vertió el volumen de muestra y se añadió el inhibidor de la nitrificación en una proporción equivalente a 20 gotas de la disolución de alliltiurea por litro de muestra. Después se colocó una membrana de goma diseñada a tal efecto donde se colocaron dos perlitas de NaOH. Se cerró el biómetro con el correspondiente tapón-registrador y se puso la lectura a cero para el comienzo de la medición presionando los dos botones al mismo tiempo durante unos 3 segundos, asegurándose que quedara hermético. Con el de la izquierda se puede seleccionar el día de lectura (de 1 a 5) mostrándose los valores para cada día (de 0 a 50), mientras que con el de la derecha se consulta el valor actual. Se introdujo el biómetro en un incubador a 20° C y se encendió el agitador magnético. La agitación se mantuvo suave y constante durante todo el ensayo y la lectura se realizó a los 5 días. La DBO₅ final de la muestra se expresó en mg de O₂ por litro:

$$\text{DBO}_5 (\text{mg O}_2/\text{L}) = L * F * fd$$

Donde:

L = Lectura del tapón

F = Factor (de acuerdo al volumen indicado en la **Tab. III.1.**)

fd = factor de dilución

I) Demanda Química de Oxígeno (DQO).

La demanda química de oxígeno (DQO) se utiliza como una medida del equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte. Las sustancias orgánicas e inorgánicas oxidables presentes en la muestra, se oxidan con una solución fuertemente ácida. Una vez producida la digestión, se determina la concentración mediante espectrofotometría.

La medida de DQO se realizó mediante tests Nanocolor (DIN 38 409 - H41-1; DIN ISO 15 705 - H45) (Anexo fotográfico, **Foto VII.15 y 16**), en función a la concentración esperada en dos rangos:

- 1000-15000 mg/L (Kits COD-REF 985028): los tubos de este test contienen ácido sulfúrico 63%, sulfato de mercurio(II) < 0,5% Hg y dicromato potásico < 0,2% Cr.
- 100-1500 mg/L (Kits COD-REF985029): los tubos de test contienen ácido sulfúrico 95%, sulfato de mercurio(II) < 1% Hg y dicromato potásico < 0,2% Cr.

La muestra se oxidó por digestión ácida durante 2 horas en un termorreactor (ECO.8) a 148 °C y se determinó mediante espectrofotometría UV- VIS la concentración de cromo (III) oxidado a longitud de onda (HW = 5-12 nm): 620 nm. (Fotómetro modelo PF-11- Macherey- Nagel MN-(www.mn-net.com)). Los resultados se tomaron directamente de la medida en el fotómetro, expresados en mg/L considerando el factor de dilución en el caso de haber realizado alguna dilución.

J) Fósforo total (PT).

El fósforo se encuentra en las aguas residuales casi exclusivamente en forma de fosfatos, fosfatos condensados (polifosfatos) y fósforo orgánico. El fósforo total (PT) es la suma de todas estas formas. Para determinar el PT en una muestra de agua residual, es necesario convertir los polifosfatos y fosfatos orgánicos en ortofosfato disuelto.

La medida de fósforo total se determinó mediante tests Nanocolor (UNE 77047, 1983), para un rango entre 5- 50 mg/L (REF-985055). La muestra se sometió a una hidrólisis ácida con ácido sulfúrico <20% y digestión oxidante durante 30 minutos en un termorreactor (ECO.8) a 120 °C, donde la materia orgánica se oxidó eficazmente y los polifosfatos se convirtieron en ortofosfato disuelto. Los fosfatos en disolución ácida reaccionaron en presencia de molibdato amónico dando un complejo fosfomolibdico, el cual, reducido por el ácido ascórbico, produjo una coloración azulada que permitió una cuantificación colorimétrica determinándose mediante espectrofotometría UV-VIS. Los resultados se tomaron directamente de la medida en el fotómetro modelo PF-11,

expresados en mg/L considerando el factor de dilución en el caso de haber realizado alguna dilución (Anexo fotográfico, **Fotos VII.15 y 16**).

K) Análisis de metales pesados: cobre (Cu) y zinc (Zn).

Metales pesados son aquellos cuya densidad es por lo menos cinco veces superior a la del agua. El Cu y Zn están considerados por ser oligoelementos o micronutrientes requeridos en pequeñas cantidades, o cantidades traza por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Sobrepasando cierto umbral se producen fenómenos de toxicidad.

El procedimiento para el análisis de estos metales totales en muestras líquidas, se realizó conforme a las especificaciones establecidas según la [APHA \(1992\)](#) y [Peters *et al.* \(2003\)](#). Mediante esta técnica puede cuantificarse el total de metales pesados incluyendo todas sus formas, tanto la fracción diluida como los metales ocluidos, contenidos en la materia orgánica y la fracción mineral (sólidos en suspensión), pero sin diferenciar entre dichas fracciones.

Las muestras se sometieron a un proceso de digestión ácida a alta temperatura, en presencia de oxidantes de la materia orgánica. En tubos pequeños de vidrio con tapón enroscado se añadieron 2,5 mL de muestra y lentamente 1,5 mL de peróxido de hidrógeno (33%). Se dejó reposar con el tapón cerrado un mínimo de 2 horas, asegurándose de que la efervescencia remitía. Se añadieron 2,5 mL de ácido nítrico (65%), se cerró y agitó. Por cada tanda de 100 muestras se incluyó al menos tres “blancos” (tubos sin muestra).

Los tubos se introdujeron dentro de unas botellas ámbar de 2 L para evitar riesgos de expulsión de cristales y gases, por lo que conviene cerrar ligeramente el tapón, para que no aumente bruscamente la presión en el interior. Se introdujeron las botellas en la estufa a 120° C durante 2,5 h. Posteriormente, dichas muestras se enrasaron en matraces de 25 mL con agua milli-Q y se filtraron mediante microfiltros de 0,45 µm, depositando el contenido en tubos de plástico de 10 mL. Se prepararon disoluciones de diferente concentración de una muestra patrón con agua Milli-Q, y se midieron en un espectrofotómetro de absorción atómica de llama Modelo A-Analyst. Perkin Elmer (Anexo fotográfico, **Foto VII.21**), construyendo así una recta de calibrado y seguidamente se determinó la concentración de muestra en mg/L teniendo en cuenta el factor de dilución.

Para muestras muy densas de purín se usaron diluciones de 1:20 y para purines depurados se usaron diluciones de 1:10. Los patrones de calibración para cobre y zinc fueron:

Tabla. III. 2. Concentraciones patrones de metales para la recta de calibrado.

ELEMENTO	PATRÓN 1 (mg/L)	PATRÓN 2 (mg/L)	PATRÓN 3 (mg/L)	PATRÓN 4 (mg/L)
Cobre	0,1	1	3	5
Zinc	1	3	5	8

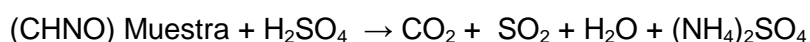
L) Nitrógeno total (NT), Nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+) y Nitrógeno Orgánico (NO).

Las formas de nitrógeno de mayor interés en aguas naturales y residuales son, por orden decreciente de su estado de oxidación, nitrato, nitrito, amoníaco y nitrógeno orgánico. Para la determinación del nitrógeno total se usó el método Kjeldalh, que valora conjuntamente el nitrógeno orgánico y el amoniacal. Este método fue desarrollado por [Johan Kjeldahl \(1883\)](#). Está basado en la hidrólisis y transformación a través de una digestión ácida de las formas orgánicas de nitrógeno (N en forma de amidas, imidas, nitro y nitroso, y otras formas) en sales de amonio (NH_4^+).

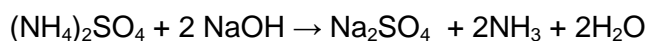
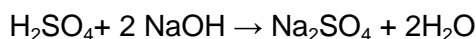
Este método no ofrece estrictamente la cantidad de N total de la muestra, aunque a menudo se asume como tal. El resultado final es la suma del N orgánico y el N en forma de amonio que hay en la muestra. Los nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-) permanecen en el mismo estado de oxidación después de la digestión. Sin embargo, la concentración en forma de N- NO_3 y N- NO_2 se considera despreciable en comparación con la concentración de N orgánico y amoniacal.

Esquema químico de las reacciones que tienen lugar:

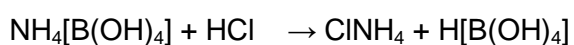
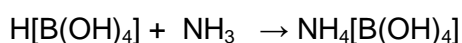
1- Digestión:



2- Neutralización y destilación:



3- Complejación y valoración:



Para ello se añadió 1 mL de muestra a un tubo Kjeldahl y 5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado al 96-98%. Se adicionó 1 g de mezcla catalizadora para aumentar el punto de ebullición favoreciendo que se completara cuantitativamente la reacción. La mezcla catalizadora se preparó mezclando 50 g de K_2SO_4 , 50 g de CuSO_4 y 2,5 g de selenio (Se), pesados en balanza de precisión. Se prepararon 3 tubos sin muestra (blancos) que junto con las muestras se digirieron en un bloque digestor adaptando la tapadera que evita la salida de gases ("scrubbers"), abriendo el grifo de agua para condensar los gases generados. La digestión fue durante 40 minutos a 400 °C. (Anexo fotográfico, **Fotos VII.22 y 23**).

Una vez enfriados los tubos (1 hora), se añadió al tubo 40 mL de agua y 30 mL de hidróxido sódico (NaOH) al 35%, liberándose amoníaco de las sales de amonio formadas inicialmente. Se destiló la muestra durante 3 minutos en un equipo automático de destilación büchi (Anexo fotográfico, **Foto VII.24**). El amoníaco condensado se recogió en una disolución de 50 mL de ácido bórico al 3% con 2 gotas de indicador (opcional), el cual fue determinado por una valoración ácido-base, usando ácido clorhídrico (HCl) estandarizado 0,1 N en un valorador automático Metrohm (Anexo fotográfico, **Foto VII.26**) el cual finaliza el proceso automáticamente cuando se alcanza un pH de 5,14.

El indicador ácido-base se preparó con: 0,22 g verde bromocresol, 0,075 g rojo de metilo en 96 mL de etanol 95 % y 3,5 mL de NaOH 0,1 N. (0,2 g de NaOH en 50 mL de agua desionizada).

El nitrógeno total se calcula sabiendo que en una valoración el número de equivalentes de la muestra valorada y la del ácido valorante han de ser iguales:

$$(N \cdot V)_{\text{muestra}} = (N \cdot (V - V_b))_{\text{HCl}}$$

$$NT \text{ (mg/L)} = (N \cdot (V - V_b))_{\text{HCl}} \cdot M_{\text{at N}} \cdot 10^3 / V_{\text{muestra}}$$

En este caso fue: $NT \text{ (mg/L)} = 1400 \cdot (V - V_b)_{\text{HCl}}$

Siendo:

N = normalidad; donde [$N = M \cdot v$; (v = valencia)], $N_{\text{HCl}} = 0,1$ y $v_{\text{HCl}} = 1$.

V_{muestra} = volumen de muestra (1 mL).

V_{HCl} = volumen de ácido consumido por la muestra en la valoración (mL).

$V_{b, \text{HCl}}$ = volumen promedio de ácido consumido por el blanco en la valoración (mL).

M_{at} = masa atómica del nitrógeno (14 g/mol).

10^3 = factor de conversión para pasar de g a mg.

NT = Nitrógeno total.

Por otro lado, el N-NH_4^+ se obtuvo siguiendo el método Kjeldahl, sin pasar por la digestión y el nitrógeno orgánico por diferencia entre el nitrógeno total y el nitrógeno amoniacal.

M) Nitrato (NO_3^-).

Los nitratos inorgánicos se forman en la naturaleza por la descomposición de los compuestos nitrogenados como las proteínas, la urea etc. En esta descomposición se forma amoníaco o amonio. En presencia de oxígeno éste es oxidado por microorganismos de tipo *Nitrobacter* a ácido nítrico que ataca cualquier base (generalmente carbonatos) que hay en el medio formando el nitrato correspondiente. Los nitratos son una parte esencial de los abonos. Las plantas los convierten de nuevo en compuestos orgánicos nitrogenados como los aminoácidos. Muchas plantas acumulan los nitratos en sus partes verdes y si se aprovechan como alimentos cocidos existe peligro de que otros organismos los convierta en nitritos por reducción, que a su vez producen nitrosaminas que son cancerígenas (Simpson, 1991).

El factor desencadenante de las actuaciones para mejorar la calidad del agua fue la creciente preocupación pública por el aumento constante de las concentraciones de nitratos en el agua potable y por la alteración de los ecosistemas acuáticos debido a la eutrofización (cuyos ejemplos más famosos son el sureste del Mar del Norte, la zona de los «Abers» de Bretaña y las lagunas del Mar Adriático y de Venecia, donde han aparecido floraciones de algas cada vez con mayor frecuencia a partir de la década de los 70).

La definición exacta de eutrofización que da la Directiva 91/676/CEE (art. 2.i) es «el aumento de la concentración de compuestos de nitrógeno, que provoca un crecimiento acelerado de las algas y las especies vegetales superiores, y causa trastornos negativos en el equilibrio de los organismos presentes en el agua y en su propia calidad.

La medida de NO_3^- se realizó mediante tests Nanocolor REF-985064 (APHA-AWWA-WPCF, 1992). Se añadió muestra a los tubos con una mezcla de ácido sulfúrico 52% / ácido fosfórico 39% y se dejó reaccionar durante 10 min a temperatura 20-25 °C. Después se realizó la determinación fotométrica con 2,6-dimetilfenol, mediante fotómetro modelo PF-11- Macherey- Nagel MN (Anexo fotográfico, **Fotos VII.15 y 16**). Los resultados se tomaron directamente de la medida en el fotómetro, expresados en mg/L y teniendo en cuenta el factor de dilución.

N) Análisis de iones.

Mediante cromatografía de intercambio iónico se analizaron los cationes: Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} ; y los aniones: Cl^- , Br^- y SO_4^{-2} (APHA-AWWA-WPCF, 1992). Para la realización de esta determinación fue necesario comprobar la conductividad eléctrica de las muestras a fin de no saturar las columnas, siendo el límite para el caso de aniones alrededor de unos 1200 mS/cm y para cationes 800 mS/cm. Se agitó la muestra, se dejó decantar unos días para facilitar el filtrado, se realizaron diluciones con agua milli-Q de acuerdo a la concentración esperada y la conductividad eléctrica resultante, se filtraron con discos de 0,45 μm , y se midió en un aparato de cromatografía con un equipo Dionex DX con detector electroquímico ED40 siguiendo el protocolo de METROHM. (Anexo fotográfico, **Foto VII.27**) El resultado se expresó en mg/L teniendo en cuenta las diluciones correspondientes.

III.5.2. Análisis microbiológicos.

Los parámetros microbiológicos en las aguas potables son de mucho interés; los microorganismos que pueden estar presentes en el agua son virus, bacterias, hongos, algas y protozoos.

Aquellos microorganismos que son inocuos para el hombre no tienen significación sanitaria, por lo que el control microbiológico del agua se ha centrado en las especies patógenas para el hombre. Dado que buscar todo tipo de microorganismos patógenos, por su diversidad, es costoso y complicado y como la relación patógenos/no patógenos es muy pequeña, se ha realizado un control del agua a través de indicadores microbiológicos de contaminación. Para que un microorganismo sea considerado como indicador microbiológico ha de reunir unas condiciones (Prescot *et al.*, 1999) que son:

- Debe ser capaz de desarrollarse en el agua.
- Debe tener una supervivencia en el agua superior a los organismos patógenos.
- Debe soportar mejor a los desinfectantes.
- Debe ser fácil de aislar, identificar y contar.
- Debe ser muy abundante en heces y escasos en otros medios.

Se han establecido una serie de análisis microbiológicos mínimo a efectuar en las aguas residuales que incluyen bacterias aerobias a 31 °C, coliformes totales y fecales, estreptococos fecales, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* (EPA 1993). Las concentraciones medias de estas bacterias patógenas recomendadas por la EPA (1993) son 1×10^3 UFC/100 mL. Por otro lado, destacar la importancia de la realización de estos análisis lo más rápido posible para que el resultado sea lo más representativo.

Las *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas o grupo *coli-aerogens* constituyen un grupo de bacterias que se definen más por las pruebas usadas para su aislamiento que por criterios taxonómicos. Pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y se caracterizan por su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido y gas, más o menos rápidamente, en un periodo de 48 horas y con temperatura de incubación comprendida entre 30-37°C. Son bacilos gramnegativos, aerobios y anaerobios facultativos, no esporulados. Del grupo “**coliformes**” forman parte varios géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, pero también en otros ambientes: suelo, plantas, cáscara de huevo, etc.

Aunque su especificidad como indicadores no es buena, se suelen usar como índice de contaminación fecal por:

- Su frecuencia en heces.
- Su fácil detección en el laboratorio.
- Sus características semejantes en algún aspecto, a las de algunos miembros patógenos de la familia *Enterobacteriaceae*.

Dentro de este grupo, son los **coliformes fecales** los que tienen significado sanitario, y por consiguiente, los que más interesan en nuestro estudio. Se considera a los coliformes fecales como presuntos *Escherichia coli*. Sus principales características son:

- Aptitud para desarrollarse entre 43,5-45,5°C.
- Capacidad para crecer en sales biliares.
- Facultad para producir indol en agua de peptona.



Foto III.49. Coliformes fecales.

Escherichia coli es quizás el organismo procarionte más estudiado por el hombre, se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales —incluido el humano— y por ende en las aguas negras. Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quién la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor. Ésta y otras bacterias son necesarias para el

funcionamiento correcto del proceso digestivo. Además produce vitaminas B y K. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram, es anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa.

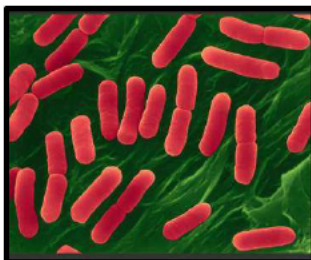


Foto III.50. *Escherichia Coli* (Kunkel, 2004)

Dentro del grupo de cocos grampositivos, según clasificación de Bergey (1984), se encuentra el género *Streptococcus*. Los miembros de este género se caracterizan por su forma cocoide y por su agrupación en parejas o en cadenas. Son generalmente, inmóviles, no esporulados, grampositivos y catalasanegativos, microaerófilos o anaerobios facultativos. De acuerdo con el esquema de Lancefield, se agrupan antigénicamente mediante las letras A, B, C, D, etc. Al grupo D de Lancefield pertenecen los **estreptococos fecales**, por ser su hábitat normal el tubo digestivo de animales de sangre caliente. Entre sus características peculiares, está el poder crecer a temperatura de 45°C y en medios con 4 por 100 de bilis. Dentro de los estreptococos fecales, están los *enterococos* (*Streptococcus faecalis* y sus variedades *Str. Faecium* y *Str. Durans*) que viven generalmente en el intestino humano. Otros *estreptococos fecales* viven en los animales (*Str. Equi* y *Str. Bovis*).

Los estreptococos son considerados indicadores de contaminación fecal. Son muy resistentes a las condiciones adversas (congelación, desecación, tratamiento térmico, etc), por esto se utilizan como índice de contaminación fecal del agua habitualmente.

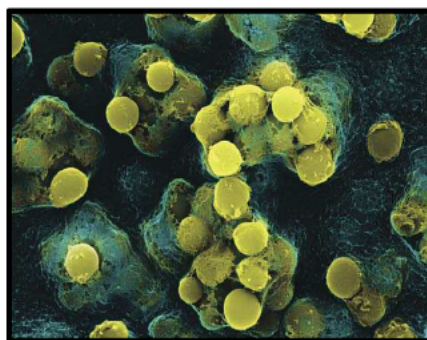


Foto III.51. Estreptococos Fecales. www.coloidales.iimdo.com

Salmonella es un género de bacterias que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, con

flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula ni esporas. Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa.

Es un agente zoonótico de distribución universal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación, en el procesado de alimentos o en el hogar, también por vía sexual. Algunas salmonellas son comunes en la piel de tortugas y de muchos reptiles, lo cual puede ser importante cuando se manipulan a la vez este tipo de mascotas y alimentos.

El género *Salmonella* es de taxonomía difícil modificada en estos últimos años por el aporte de estudios moleculares de homología de ADN que han clarificado el panorama taxonómico de las enterobacterias.

Para la bacteriología clínica, *Salmonella* es un bacilo patógeno primario (como *Shigella*, *Yersinia* y ciertas cepas de *E. coli*), anaerobio facultativo, algunos móviles y no fermentan la lactosa. *S. typhi* es la única serovariedad que no produce gas en la fermentación de los azúcares.

Clásicamente se distinguían tres únicas especies patógenas primarias: *S. typhi*, *S. cholerae-suis* y *S. enteritidis*. A su vez, según la serotipificación de Kauffman y White, eran clasificadas en más de 2000 serotipos en base a los antígenos flagelares H (proteicos) y antígenos somáticos O (fracción polisacárida del lipopolisacárido bacilar). *S. typhi* posee además un antígeno de virulencia (Vi).

El tratamiento taxonómico actual de *Salmonella* ha simplificado el espectro, reagrupando todas las cepas (patógenas o no) en dos únicas especies: *S. enterica* y *S. bongori*. Ésta última (previamente subespecie V) no es patógena para el ser humano.

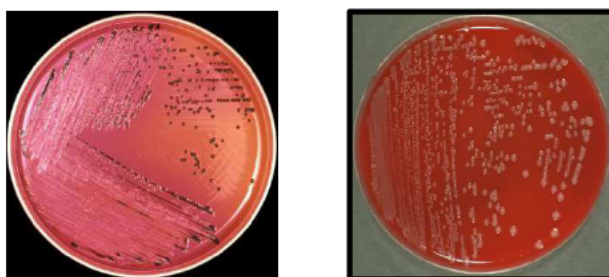
La especie *S. enterica* tiene seis subespecies (a veces presentadas como subgrupos bajo numeración romana): I *entérica*, II *salamae*, IIIa *arizonae*, IIIb *diarizonae*, IV *houtenae*, V *S. bongori*, ya incluida en una especie distinta y VI *indica*

Cada subespecie a su vez, está conformada por diversos serotipos, habiéndose identificado hasta la fecha más de 2500. Una de ellas es *S. enterica* subsp. *enterica* (o subgrupo I), se divide en cinco serogrupos: A, B, C, D y E. Cada serogrupo comprende múltiples componentes, son las serovariedades (serotipos).

Esta clasificación implica una terminología de uso poco práctico en la clínica bacteriológica, por lo tanto, en términos médicos, la nomenclatura es diferente y simplificada, pues se consideran los nombres de los serotipos (serovariedades) de *Salmonella* como si fuesen nombres de especies. Por ejemplo, "*Salmonella enterica* subgrupo *entérica* serotipo *Typhimurium*", se refiere como "*Salmonella typhimurium*". Estas denominaciones, aunque menos correctas desde el punto de vista taxonómico estricto, son de aceptación mundial.

Con importancia clínico epidemiológica, las más de 2000 serovariedades de *Salmonella* pueden agruparse en tres divisiones ecológicas (spp. son subespecies):

1. *Salmonella* spp. adaptadas a vivir en el ser humano, entre ellas, *S. typhi*, *S. paratyphi* A, B y C;
2. *Salmonella* spp. adaptadas a hospederos no humanos, que circunstancialmente pueden producir infección en el hombre, entre ellas, *S. dublin* y *S. cholerae-suis*;
3. *Salmonella* spp. sin adaptación específica de hospedero, que incluye a unas 1800 serovariedades de amplia distribución en la naturaleza, las cuales causan la mayoría de las salmonelosis en el mundo.



Fotos III.52 y 53. *Salmonella* (www.textbookofbacteriology.net) y *Shigella* (www.bacteriemias.wordpress.com) en placa Petri en Agar XLD, respectivamente.

Shigella es un género de bacterias con forma de bastoncillo Gram negativas, no móviles, no formadoras de esporas e incapaces de fermentar la lactosa, que puede ocasionar diarrea en los seres humanos. Fueron descubiertas hace 100 años por el científico japonés Kiyoshi Shiga, de quien tomó su nombre.

Hay varias especies diferentes de bacterias *Shigella*, clasificados en cuatro subgrupos:

- Serogrupo A: *S. dysenteriae* (12 serotipos), es un tipo que se encuentra en los países del mundo en desarrollo donde ocasiona epidemias mortíferas.
- Serogrupo B: *S. flexneri* (6 serotipos), causante de cerca de una tercera parte de los casos de shigelosis en los Estados Unidos.
- Serogrupo C: *S. boydii* (23 serotipos).
- Serogrupo D: *S. sonnei* (1 serotipo), conocida también como *Shigella del grupo D*, que ocasiona más de dos terceras partes de todos los casos de shigelosis en los Estados Unidos.

Los grupos A–C son fisiológicamente similares, *S. sonnei* (grupo D) puede ser distinguida del resto en base de pruebas de metabolismo bioquímico.

A) Medios de cultivo y preparación del diluyente y muestra.

Los medios de cultivo sólido se emplean habitualmente en microbiología para el recuento de microorganismos viables. Estos medios llevan en su composición un polisacárido, el agar, que hace que solidifiquen cuando se enfrían por debajo de unos 40 °C. Llevan además nutrientes que permiten el crecimiento de los microorganismos. Una vez preparados y esterilizados, se vierten en placas de Petri y se incuban a una temperatura apropiada para el crecimiento de los microorganismos. Éstos al crecer forman colonias visibles que posibilitan el recuento.

La preparación de los medios de cultivo sólidos incluye siempre una etapa de ebullición para conseguir la perfecta disolución del agar. Existen fundamentalmente dos técnicas de recuento en placa, siendo en cada caso el modo de preparación del agar diferente:

- Recuento por homogeneización en masa: En este caso el medio de cultivo se mantiene fundido hasta el momento de su uso.
- Recuento por extensión en superficie: El medio se prepara y se vierte en placas dejándolo solidificar antes de su uso.

Para la realización de cada uno de los parámetros microbiológicos, fue necesario realizar diluciones seriadas de la muestra, que nos permitieron posteriormente realizar recuentos apropiados. Como diluyente se usó agua de peptona al 1% distribuyendo 90 mL en frascos de 100 mL y 9 mL en tubos de ensayos de 10 mL esterilizados 15 minutos a 121°C en el autoclave.

Se pipetearon 10 mL de muestra asépticamente, se echaron a una bolsa añadiendo asépticamente 90 mL de agua de peptona y se homogeneizó en el "masticador". Esto constituyó la dilución madre, -1, 1/10 ó 10^{-1} . Dependiendo de la naturaleza de nuestra muestra, se deberán realizar más o menos diluciones. Para aguas, se trabajan con diluciones de -1, -2 y -3 mientras que para el caso del purín de cerdo bruto, dependiendo de su carga, fueron necesarias diluciones de hasta -6 y -8. Se realizaron diluciones decimales seriadas del mismo; se tomó una pipeta estéril, se pipeteó asépticamente 1 mL de la dilución -1 y se añadió a un tubo de 9 mL de agua de peptona. Esto constituyó la dilución -2, 1/100 ó 10^{-2} . Se tomó una pipeta estéril, se pipeteó asépticamente 1 mL de la dilución -2 y se añadió a un tubo de 9 mL de agua de peptona. Esto constituyó la dilución -3, 1/1000 ó 10^{-3} . En algunos casos, se repitió el proceso hasta llegar a la dilución -8.

B) Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos.

En agar TSA ("Trypticase soy agar"), por siembra en placa con homogeneización en masa, con incubación a 31 ± 1 °C durante 72 horas en aerobiosis. El agar TSA es un medio de cultivo sólido y no selectivo que se emplea para el recuento estándar de microorganismos aerobios.

Se pesaron 40 g/L de TSA en frascos donde se mezclaron mediante agitación llevando a ebullición y posteriormente se esterilizó durante 15 minutos a 121 °C en el autoclave para su distribución en placas Petri añadiendo 15-20 mL de agar TSA (fundido previamente y atemperado a 50°C). Se prepararon 2 placas de Petri vacías por cada dilución y se marcaron con la dilución correspondiente e identificación de la muestra. Se pipeteó 1 mL de cada una de las diluciones (empezando por la dilución más diluida) y se depositó en el fondo de las placas de Petri, por duplicado. Se mezcló inmediatamente las diluciones con el agar haciendo un movimiento de rotación de las placas, diez veces en el sentido de las agujas del reloj y diez veces en sentido inverso, seguido de un movimiento de vaivén realizado diez veces de izquierda a derecha y diez veces de arriba hacia abajo.

Se dejó solidificar el agar. Se incubaron las placas en la estufa en posición invertida a 31 ± 1 °C durante 48/72h. Se contaron las colonias de las placas que tenían entre 30 y 300 colonias. Se determinó el número de bacterias viables, presentes en la muestra mediante siembra en placa. (El nº de colonias debe disminuir en forma inversamente proporcional a la dilución, reduciéndose en cada caso a la décima parte. Las dos placas correspondientes a una misma dilución deben presentar un número similar).

Finalmente, se expresó el resultado en unidades logarítmicas UFC (Unidades Formadoras de Colonias)/mL de muestra, haciendo la media de los recuentos de las dos placas correspondientes a la misma dilución y multiplicando por el factor dilución.

C) Coliformes.

Los medios de cultivo líquido (caldo) se emplean habitualmente en microbiología para permitir el crecimiento de microorganismos viables. Estos medios se distribuyen en tubos antes de ser esterilizados. Los medios líquidos no permiten la enumeración de colonias, únicamente permiten evidenciar si hay o no crecimiento microbiano tras la correspondiente incubación. Los medios de cultivo líquido generalmente no requieren ser hervidos, pero si esterilizados, (Anexo fotográfico, **Fotos VII.28 y 29**).

El Caldo Biliado al 2% con Verde Brillante es un medio de cultivo líquido y selectivo (sales biliares y verde brillante) que se emplea para el recuento de enterobacterias y coliformes. Se pesaron 40 g de medio deshidratado por litro de agua

destilada. Se mezclaron homogéneamente y se distribuyeron en tubos de ensayo (9 mL/tubo). Se introdujo una campana Durham en cada tubo de ensayo. Se esterilizaron 15 minutos a 121°C en el autoclave.

Coliformes totales.

Se determinaron en caldo lactosado biliado con verde brillante al 2% (BGBL), por la técnica del número más probable (NMP), con incubación a 37°C durante 24-48 horas. Se prepararon 3 tubos de caldo BLBG por cada dilución y se marcaron con la dilución correspondiente e identificación de la muestra. Se pipeteó 1 mL de cada una de las diluciones (empezando por la dilución más diluida) y se depositaron en un tubo de caldo BLBG, por triplicado. Se incubaron los tubos en la estufa a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24/48 h. Se determinaron los tubos positivos por la presencia de turbidez en el medio y de gas en la campana. Se calculó el número más probable de coliformes totales por mL de muestra, empleando las tablas del NMP. Según la combinación de tubos positivos obtenida le corresponde un valor conocido como el número más probable NMP, el cual se transforma a logaritmo.

Coliformes fecales.

Se determinaron por siembra de los tubos positivos de los coliformes totales en BGBL, por la técnica del NMP, con incubación a 44,5 °C durante 24-48 horas. Se prepararon tantos tubos de caldo BLBG (estériles) como tubos positivos habían de coliformes totales. De cada tubo positivo de coliformes totales (con gas en la campana) se inocularon, mediante un asa de siembra, a un tubo de caldo BLBG estéril. Se incubaron los tubos en la estufa a 44,5°C durante 24 h. Se determinaron los tubos positivos por la presencia de turbidez en el medio y de gas en la campana. Se calculó el número más probable de coliformes fecales por mL de muestra, empleando las tablas del NMP. Según la combinación de tubos positivos obtenida le corresponde un valor conocido como el número más probable NMP, el cual se transforma a logaritmo.

D) *Escherichia coli*.

Se determinó por siembra en estría en placa de “Agar Levine” o de “Eosin Methylene Blue” (EMB), de los tubos positivos de los coliformes fecales y confirmación con pruebas bioquímicas. Se determinó la presencia/ausencia de *Escherichia coli* en 10 mL de muestra partiendo de los tubos positivos de coliformes fecales, que se sembraron el día anterior. Para ello se sembró superficialmente, por extensión en superficie (siembra en estría), los tubos positivos (con gas en la campana), en placas con agar EMB. Se incubaron las placas en posición invertidas en la estufa a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24/48 h.

Se aislaron, como mínimo dos colonias con aspecto típico de *Escherichia coli* y con un asa de siembra se cogió una colonia y se suspendió en un tubo de ensayo con 5 mL de agua de peptona tamponada estéril y tapón de rosca. Se agitó el tubo hasta la disolución de la colonia. Después, se vertió agua destilada en la base de la galería API 20-E para la siembra de cada suspensión. Se añadió a cada pocillo cierta cantidad de solución, más agar de sellado, según las instrucciones del fabricante y se incubó a 37°C durante 18-24 horas y se identificó el microorganismo según las tablas y el programa informático APILAB. Y finalmente, el resultado se expresa en positivo o negativo.

E) *Streptococcus* fecales.

Se estimó el número de *Streptococcus* fecales (del grupo D de Lancefield) mediante siembra en caldo de kanamicina-aesculina-azida (KAA) y confirmación con siembra en estría en placa por extensión en superficie de los tubos positivos de *streptococcus* fecales.

El Caldo KAA es un medio de cultivo líquido y selectivo que se emplea para el recuento de *Streptococcus* fecales (del grupo D de Lancefield). Se pesaron 29,7 gramos de medio deshidratado por 500 mL de agua destilada. Se mezclaron homogéneamente y se distribuyeron en tubos de ensayo (9 mL/tubo). Se esterizaron 15 minutos a 121°C en el autoclave.

También se preparó medio deshidratado KAA, se pesaron 43,2 g de por 500 mL de agua destilada. Se mezclaron homogéneamente y se llevaron a ebullición agitando constantemente. Se distribuyeron en frascos. Se esterizaron durante 15 minutos a 121°C en el autoclave.

Se prepararon 3 tubos de caldo KAA por cada dilución y se marcaron con la dilución correspondiente e identificación de la muestra. Se pipeteó 1 mL de cada una de las diluciones (empezando por la dilución más diluida) y se depositaron en un tubo de caldo KAA, por triplicado. Se incubaron los tubos en la estufa a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24/48 h. Se determinaron los tubos positivos por un cambio de color de verduzco a negro del medio. Se sembraron superficialmente, mediante siembra en estría, los tubos positivos, en placas con agar KAA. Se incubaron las placas en la estufa en posición invertida a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24/48 h.

Las placas que sufrían un cambio de color de verduzco a negro eran indicadoras de la presencia de *streptococcus* fecales (del grupo D de Lancefield) y por tanto confirmaba que el tubo del cual se había realizado la siembra era positivo. Se calculó el número más probable de *streptococcus* fecales (del grupo D de Lancefield) por mL de

muestra, empleando las tablas del NMP. Según la combinación de tubos positivos obtenida le corresponde un valor conocido como el número más probable NMP, el cual se transformó a logaritmo.

F) Salmonella y Shigella

Esta prueba consiste en determinar presencia/ausencia en 25 mL de muestra mediante enriquecimiento selectivo en caldo selenito cistina, aislamiento en medio sólido selectivo de agar xilosa-lisina-desoxicolato (XLD); para aislar por extensión en superficie (siembra en estría), y confirmación con pruebas bioquímicas (Galería API 20E).

Enriquecimiento selectivo en Caldo Selenito Cistina:

El caldo Selenito Cistina se debe preparar el mismo día de su uso y no se esteriliza (solo se hierve). Se pesaron 19,01 g de medio deshidratado selenito cistina y 4 g de medio deshidratado sodio biselenito en 1L de agua destilada. Se mezclaron homogéneamente y se distribuyeron en frascos de 225 mL. Se pipetearon 25 mL de muestra y se introdujeron en un frasco con 225 mL de Caldo Selenito Cistina. Se incubaron a 37°C durante 18-24 horas.

Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos:

El agar XLD se debe preparar el mismo día de su uso y no se esteriliza (sólo se hierve). Se pesaron 56,68 g de medio deshidratado por litro de agua destilada. Se mezclaron homogéneamente y se llevaron a ebullición agitando constantemente. Se distribuyeron en placas de Petri. Se sembró (siembra en estría), por cuádruplicado, sobre agar XLD. Se incubaron las placas en la estufa en posición invertida a 37°C durante 24-48 horas. En agar XLD las colonias de *Salmonella* son rojas con centros negros. A veces no se forman centros negros o las colonias son negras casi por completo. En agar XLD las colonias de *Shigella* son transparentes y del mismo color que el medio de cultivo, sin ningún tipo de halo alrededor.

Identificación de colonias sospechosas:

Se aislaron, como mínimo dos colonias con aspecto típico de *Salmonella*. Se suspendió cada colonia en agua de peptona tamponada estéril o agua destilada estéril. Se sembró una galería API 20E con cada suspensión según las instrucciones del fabricante. Se incubó a 37°C durante 18-24 horas. Se identificó el microorganismo según las tablas y el resultado se expresó en positivo o negativo.

III.5.3. Análisis de microalgas.

Se intentó seleccionar una microalga adecuada a las características del efluente que estábamos tratando con la intención de cultivarla en cantidad para añadirla en la balsa final de almacenamiento y depurar el efluente final. Para ello, se realizaron pruebas de tolerancia a los purines, de las células de una microalga denominada *Anabaena sp.* Inicialmente, se realizó un cultivo de *Anabaena* 7120 en medio BG-11 (Blue Green) en tubos de ensayo.

Tabla III.3. Composición del medio BG-11.

MEDIUM BG-11		
Ingredientes	g/L	mM
NaNO ₃	1,5	17,65
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,04	0,18
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,075	0,30
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,036	0,25
Ácido cítrico	0,006	0,03
Citrato amónico férrico	0,006	0,03
EDTA (disodio magnesio)	0,001	0,003
Na ₂ CO ₃	0,02	0,19
Mezcla de metales traza A5+Co	1 mL	
Agua desionizada	1 L	
pH después de autoclavar y enfriar:	7,4	
Trace metals A5+Co		
Ingredientes		
H ₃ BO ₃	2,86	
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,81	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,222	
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,390	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,079	
Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,049	

Los ensayos realizados fueron a diferentes concentraciones crecientes de purín en el medio de cultivo: 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8 %, 0,9%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 25%, 50% y 100%. Los resultados obtenidos mostraron que las cepas apenas sobrevivieron en estas concentraciones de purín.

Por otro lado, se observaron en la balsa de almacenamiento afloraciones de microalgas silvestres, así que se procedió al aislamiento de estas microalgas para su posterior identificación en microscopio encontrándose *Scenedesmus sp.*

Como consecuencia, se procedió a un segundo ensayo; en matraces (batch culture) a 15°C, 300 uEm-2s-1 luz continua en cámaras de cultivo. Se realizó la puesta en marcha de dos biorreactores de cultivo continuo en los que se cultivaron dos algas de estudio: *Anabaena* sp y *Scenedesmus* sp. En estos biorreactores de cultivo continuo se fue aumentando la concentración de purín en pasos muy pequeños tras un tiempo de crecimiento de las células una vez alcanzado el estado estacionario en crecimiento.

Para el comienzo de este experimento se realizaron dos medios de cultivo diferentes adaptados a las necesidades de las especies de estudio. En el caso de *Anabaena* sp., se utilizó el medio BG-11 (Tab. III.3). Para *Scenedesmus* sp fue el medio de cultivo 3N BBM+V (Bold Basal Medium with 3 fold Nitrogen and Vitamins; modified) (Tab. III.4). En ambos casos se realizaron los cálculos para adaptar los medios de cultivo a los aportes de purín que se irían añadiendo. De esta forma, para cada medio se reducían las cantidades de ciertos nutrientes en función de la concentración de estos en las diferentes diluciones de purín.

Tabla III.4. Composición del medio 3N BBM+V (disolución 1+2).

Disolución 1	g/L	Disolución 2	mg/L
NaNO ₃	25	Na ₂ EDTA	0,75
CaCl ₂ .2H ₂ O	2,5	FeCl ₃ .6H ₂ O	97
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5	MnCl ₂ .4H ₂ O	41
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	17,5	ZnCl ₂ .6H ₂ O	5
NaCl	2,5	CoCl ₂ .6H ₂ O	2
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	4		

Se diseñó una célula fotoeléctrica que funcionaba tras un filtro de luz verde, de forma que cuando el cultivo alcanzaba una concentración determinada de células accionaba la bomba peristáltica que introducía medio de cultivo en el biorreactor hasta que el cultivo se diluía lo suficiente como para que la célula fotoeléctrica cortara de nuevo el paso de medio con la finalidad de conseguir una aclimatación progresiva de las cepas a la concentración de purines.



Foto III.54. Biorreactor de cultivo en continuo.

Se eligió el cultivo en continuo ya que es el que ofrece mayores posibilidades de control, permitiendo controlar el proceso a un valor de velocidad específica de crecimiento (μ) prefijado de manera muy simple. Mediante este tipo de cultivo es posible estudiar el efecto sobre el proceso de variables como pH, temperatura, concentración de nutrientes, etc., manteniendo constante el valor de μ .

Esto nos permitió observar el efecto que tiene el purín en el cultivo y evaluar los cambios que se producen en éste.

Para la puesta en marcha de los cultivos continuos en ambos biorreactores, se realizó previamente un cultivo batch (Foto III.55) y cuando se agotó el sustrato limitante se comenzó a alimentar el biorreactor con medio de cultivo fresco (Foto III.56).



Foto III.55. Cultivos Batch.



Foto III.56. Inicio de alimentación de cultivo.

Una vez estabilizados los biorreactores se hicieron mediciones mediante la célula fotoeléctrica que funciona tras un filtro de luz verde, mediante la cual se estableció la concentración de células presentes en cada biorreactor (**Foto III.57.**) y con esto activar las bombas peristálticas responsables del aporte de medio para mantener la concentración de células constante.



Foto III.57. Medición con célula fotoeléctrica.

Una vez establecida esta concentración y llenado cada biorreactor con 2 L de cultivo, mediante un rebalse se logra que el volumen de cultivo permanezca constante. El caudal de salida contendrá células, mientras que la concentración de nutrientes será menor que en el caudal de entrada debido a que en parte fueron consumidos por los microorganismos.

Para poder realizar el cálculo de la tasa de crecimiento celular diaria se realizaron diferentes cálculos como el caudal de entrada y el recuento de células en el caudal de salida por mL. El recuento de células se realizó para ambos casos (*Anabaena sp* y *Scenedesmus sp*) con el uso de Cámara Thoma (**Foto III.58**)



Foto III.58. Cámara Thoma.

Mediante este recuento y los valores de flujo de entrada de cultivo se calcularon las velocidades específicas de crecimiento obteniendo los siguientes datos:

$V = 20,20 \cdot 10^6$ cel/min para *Anabaena sp*

$V = 3,87 \cdot 10^6$ cel/min para *Scenedesmus sp*

Posteriormente, se procedió al mantenimiento de los biorreactores con una concentración de células constante. Tras ese tiempo se realizó la aplicación de purines a diferentes concentraciones.



Foto III.59. Biorreactores con cultivos de *Anabaena sp.* y *Scenedesmus sp.*, respectivamente.

III.6. FACTORES EVALUADOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

En esta experiencia, se han tenido en cuenta distintos factores objeto de estudio por su posible influencia en el efecto depurador del sistema de depuración, permitiendo disminuir en mayor o menor medida las concentraciones de los distintas variables físico-químicas y microbiológicas que han sido analizadas.

Los diferentes factores que se han evaluado en esta tesis para determinar su efecto en la eficacia de depuración han sido:

Factor 1. Conjunto de tratamientos en secuencia.

Se ha evaluado si los parámetros analizados en el purín presentan diferencias significativas entre los diferentes tratamientos usados:

- Separación de sólidos
- Aireación y Espesado de fangos
- Decantación
- Humedales artificiales de plantas macrófitas
- Balsa de almacenamiento

Factor 2: Capas de grava.

Como se ha descrito anteriormente, contamos con 6 humedales con diseños diferentes en cuanto a lecho de grava y densidad de planta. Los humedales 1, 2 y 3 fueron contruidos contando con una capa de grava gruesa, y los humedales 4, 5 y 6 contando con dos capas de grava, una gruesa y otra mediana (**Fig. III. 3**). De esta forma, se ha evaluado si existen diferencias significativas en el uso de un tipo de humedal u otro con respecto a las capas de diferente tamaño de grava.

Para el estudio comparativo de los sustratos empleados en los humedales, se tuvo en cuenta un total de 264 muestras de entrada de purín decantado y 192 muestras de la salida de los humedales, de las cuales 111 muestras correspondieron a los humedales de una capa de 80 cm de grava calcárea de 23-40 mm de diámetro y 81 muestras de los humedales de dos capas de 40 cm cada una de 23-40 mm de diámetro la más profunda y 4-8 mm la superior.

Factor 3. Densidad de plantación.

De los 6 humedales contruidos, en los humedales 1 y 4 no se llevó a cabo plantación de *Phragmites australis*, (0 plantas), en los humedales 2 y 5 se plantaron 5 plantas por metro cuadrado y en los humedales 3 y 6 se plantaron 10 plantas por metro cuadrado (**Fig. III. 3**). De esta forma, se ha evaluado si existen diferencias significativas en el uso de un tipo de humedal u otro con respecto a la densidad de plantación.

Para el estudio comparativo de las diferentes densidades de plantación de *Phragmites australis* empleadas en los humedales, se tuvo en cuenta un total de 264 muestras de entrada de purín decantado y 192 muestras de la salida de los humedales, de las cuales 60 muestras correspondieron a los humedales sin planta, 66 muestras a los humedales de densidad de 5 plantas/m² y 66 muestras de los humedales de 10 plantas/m².

Factor 4: Tiempo de retención hidráulica (TRH).

En esta experiencia se trabajó a diferentes tiempos de retención, (tiempo que el efluente permanece en el interior del humedal), por lo que para evaluar su efecto depurador se agruparon los datos de acuerdo a diversos rangos de tiempo:

- 1 semana \leq TRH \leq 1 mes
- 1 mes $<$ TRH \leq 2 meses,
- 2 meses $<$ TRH \leq 4 meses
- 4 meses $<$ TRH \leq 10 meses.

Para el estudio comparativo de las diferentes tiempos de retención hidráulico con los que se ha operado en los humedales, se tuvo en cuenta un total de 264 muestras de entrada de purín decantado y 192 muestras de la salida de los humedales, de las cuales 57 muestras correspondieron a los humedales con 1 semana \leq TRH \leq 1 mes de operación, 36 muestras para 1 mes $<$ TRH \leq 2 meses, 42 muestras para 2 meses $<$ TRH \leq 4 meses y 57 muestras para 4 meses $<$ TRH \leq 10 meses.

Factor 5: Estaciones del año.

Se ha evaluado si las diferentes estaciones del año, primavera, verano, otoño e invierno, tienen efectos significativos en la eficiencia de la depuración de los purines

Para el estudio comparativo de las diferentes estaciones del año en las que se ha operado en los humedales, se tuvo en cuenta un total de 264 muestras de entrada de purín decantado y 192 muestras de la salida de los humedales, de las cuales 60 muestras se tomaron en primavera, 24 en verano, 60 en otoño y 48 en invierno.

Factor 6. Longevidad.

Se ha evaluado si existe un efecto en la eficiencia de depuración en cuanto a la evolución temporal y madurez de los humedales artificiales entre los diferentes años de estudio (2006-2010).

Para el estudio comparativo de la longevidad de los humedales artificiales a lo largo de los años de estudio en los que se ha operado, se tuvo en cuenta un total de 264 muestras de entrada de purín decantado y 192 muestras de la salida de los humedales, de las cuales se muestrearon 33 muestras en 2006, 45 en 2007, 60 en 2008, 33 en 2009 y 21 en 2010.

Análisis estadístico.

Al conjunto de datos se le aplicó el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para todas las variables de estudio. El resultado fue que todas las variables fueron no paramétricas (no siguen una distribución normal), a pesar de realizar diversas transformaciones como raíz cuadrada, inversa, diversas potencias, exponencial y logaritmo. Como consecuencia, tanto para evaluar la relación entre los parámetros como para establecer si existían diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, se recurrió al uso de pruebas no paramétricas.

Se realizó un estudio de las relaciones entre parámetros en el purín. Por lo tanto, se recurrió al test de correlación de Spearman para muestras no normalizadas. En el capítulo de resultados se muestra el valor de Rho de Spearman el cual varía desde -1 hasta +1. El signo indica qué tipo de relación existe entre las variables, si es + indica una relación de proporcionalidad directa y si es negativo indica que existe una relación inversamente proporcional. El valor de Rho, en valor absoluto, indica la magnitud de la correlación, siendo mayor cuanto más próximo a 1 sea éste. Este test nos proporciona también información sobre el nivel de significación de esta relación, el cual se representa por asteriscos si existe algún grado de significación y ns cuando no ($P > 0,05$: ns, $P < 0,05$: *, $P < 0,01$: ** y $P < 0,001$: ***).

Para determinar las diferencias entre los diferentes factores estudiados en los parámetros analizados se utilizó el test de Kruskal-Wallis (valor de χ^2) y comparativas dos a dos mediante el test de U- Mann-Whitney. El nivel de significación en las figuras se representa mediante asteriscos o el término ns, según: $P > 0,05$: ns, $P < 0,05$: *, $P < 0,01$: ** y $P < 0,001$: ***. En las gráficas del **capítulo de Resultados y Discusión** se muestran los valores promedio que son diferentes entre sí mediante el uso de letras diferentes ($P < 0,05$), mientras que los valores que los valores promedio sin letras no son significativamente diferentes (ns, $P > 0,05$). El análisis estadístico se ha realizado mediante el programa SPSS versión 17 para Windows.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

IV.1. CARACTERÍSTICAS DEL PURÍN Y RELACIONES ENTRE PARÁMETROS.

IV.1.1. Características del purín bruto.

En la **tab. IV.1.1.**, se muestran los resultados analíticos obtenidos en el purín de cerdo usado en este estudio. Destacar que la gran desviación estándar obtenida fue debida especialmente a que se trataron lotes de purín de granjas distintas.

Tabla IV.1.1. Características del purín bruto.

Purín bruto	Media	Máx	Min	DE
T (°C)	18,9	29,1	5,5	4,5
Eh (mV)	-391	-44	-607	170
pH	7,23	8,87	6,16	0,38
CE (dS/m)	9,49	23,7	5,00	3,94
STS (mg/L)	25.122	122.450	1.086	18.582
SS (mL/L)	365	900	8	225
STD (mg/L)	7.595	18.960	4.000	3.148
DBO ₅ (mg/L)	4.804	42.000	319	6.754
DQO (mg/L)	13.093	70.000	399	12.988
PT (mg/L)	303,4	2.035,0	8,2	490
Cu (mg/L)	23,92	35,2	1,3	22,3
Zn (mg/L)	21,56	58,2	2,1	29,4
NT (mg/L)	1.527,4	5.597,2	399	997,5
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	1.105,1	5.334,0	278,6	807,8
NO (mg/L)	422,3	1.831,9	1,4	397,4
NO ₃ ⁻ (mg/L)	80	157	2	104
Cl ⁻ (mg/L)	629	1.690	213	345
Br ⁻ (mg/L)	7,36	40,52	0,02	9,63
SO ₄ ⁻² (mg/L)	222	943	2	195
Na ⁺ (mg/L)	299	754	3	183
K ⁺ (mg/L)	976	3439	14	873
Ca ⁺² (mg/L)	121	381	6	67
Mg ⁺² (mg/L)	103	823	3	131
AM (Log(UFC/mL))	6,03	7,71	3,63	0,82
CT (Log(UFC/mL))	2,28	4,04	0,48	0,82
CF (Log(UFC/mL))	1,58	3,66	0,48	0,87
EF (Log(UFC/mL))	3,67	5,04	1,95	0,64
Salmonella (%)		17		
Shigella(%)		0		
Escherichia Coli (%)		27		
Muestras		264		

Como ya se ha comentado en el **capítulo de Materiales y Métodos**, el 80% del purín bruto tratado procedió de la granja experimental de ciclo cerrado del CIFEA y en momentos puntuales debido a su agotamiento, se hizo uso de purín bruto de explotaciones porcinas de ciclo cerrado de la comarca de Lorca, presentando mayores valores en todas las variables analizadas con respecto al del CIFEA.

El purín es el conjunto de heces y orina eliminados por los animales, a los que se añade: el agua del interior de las naves desperdiciada por los bebederos automáticos, pérdida en las fugas de la canalización, agua de limpieza, el pienso desperdiciado en las tolvas y comederos, y el agua procedente del exterior de las naves, lluvia sobre fosos y balsas descubiertas, escorrentía que por superficie, que llega a los fosos exteriores, (Simpson, 1991; Lobera *et al.*, 1998; Abaigar *et al.*, 1999; Belmonte *et al.*, 2008).

Los purines pueden presentar características muy diferentes en el momento de ser tratados, dado que su producción depende de factores tales como el número de animales existentes en cada plantel de crianza y su estado fisiológico (cría, recría, engorda, gestación, maternidad), tipo y manejo de explotación (tipo de bebedero, manejo del agua, etc.), el alimento ingerido por los animales en cuanto a calidad y cantidad (que también variará según su estado fisiológico), el volumen de agua consumida e incluso el clima (Belmonte *et al.*, 2008).

También podemos encontrar variabilidad en la composición en una misma granja según la estación del año y el momento de vaciado de la fosa, ya que se produce una estratificación. Cuando el purín se encuentra almacenado en la fosa tiene lugar un proceso de sedimentación, que afecta a la distribución de nutrientes en las diferentes profundidades o niveles de la fosa. En la *estratificación de los nutrientes en la fosa* se pueden diferenciar tres capas:

- Una de *material sedimentado* en la parte inferior de la fosa, densa, rica en elementos minerales principalmente PT y NO.
- Una *fracción líquida* que contiene los elementos solubles como el N-NH_4^+ y K^+ .
- Una *costra superficial* formada por materias celulósicas, con parte del NO.

La sedimentación de nutrientes del purín en los distintos estratos de la fosa tendrá implicaciones en el momento de repartir los elementos nutritivos del mismo.

A) Eh

El rango encontrado de Eh en los purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre -376 y -280 mV. Algunos autores encontraron -376 mV (Lobera *et al.*, 1998); -361 mV (Moral *et al.*, 2005); -280 mV (Rufete *et al.*, 2006); o -383 mV (Sánchez-García *et al.*, 2010). El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es ligeramente superior a los observados.

B) pH

El rango encontrado de pH en los purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 6,80 y 8,39. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de pH observados. 7,4 (Duthion, 1979); 7,28, (Germon *et al.*, 1979); 7,1 (Meeus-Verdinne *et al.*, 1979); 7,28 (Bertrand y Smagghe, 1985); 7,90 -7,92 (Costa Yagüe, 1987); 7,6 (Bernal, 1990); 6,9 (CEMAGREF, 1990); 7,87 (Costa Yagüe, 1991); 8,7 (Bicudo y Svoboda, 1995); 6,80-8,20 (Bellido *et al.*, 1997); 7,69 (Lobera *et al.*, 1998); 7,68 (Bonmatí, 2001); 7,9 (Sánchez, 2001); 7,7 (Vanotti y Hunt, 2001); 7,2 (Plaza, 2002); entre 7,20 y 8,20 (Llona, 2005); 7,43 (Moral *et al.*, 2005); 7,59 (Sánchez y González, 2005); 7,8 (Rufete *et al.*, 2006); 7,4 (Tofant *et al.*, 2006); 7,6 en cerdas reproductoras, 7,58 en explotaciones de ciclo cerrado, 7,55 cerdos de cebo, (Andrés, 2008); 8,39 (Caballero-Lajarín *et al.*, 2008); 7,59 (Domínguez *et al.*, 2010); entre 7,63 y 7,64 (Gómez-Garrido *et al.*, 2009); 8,3 (Monroy *et al.*, 2009); 7,17 (Suresh *et al.*, 2009); 7,61 (Wong *et al.*, 2009); 7,2 en cerdos de alimentación líquida y 7,1 en cerdos de alimentación convencional, (Faz *et al.*, 2010); entre 6,88 y 7,33 (Massé *et al.*, 2010); 7,45 (Sánchez-García *et al.*, 2010).

C) CE

El rango encontrado de CE en los purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 6,83 y 47,32 dS/m. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo observado siendo un valor bajo. En la bibliografía se han encontrado los siguientes valores: 20 dS/m (Costa (Yagüe, 1987); 15,6 dS/m (Bernal, 1990); 15,27 dS/m (Costa Yagüe, 1991); 14,8 dS/m (Lobera *et al.*, 1998); entre 19,10 y 20,00 dS/m (De la Torre *et al.*, 2001); 18,2 dS/m (Sánchez, 2001); 19,5 dS/m (Plaza, 2002); entre 10,50 y 13,60 dS/m (Llona, 2005); 17,9 dS/m (Moral *et al.*, 2005); 15,59 dS/m (Sánchez, *et al.*, 2005); 19,46 dS/m (Rufete *et al.*, 2006); 13,69 dS/m (Tofant *et al.*, 2006); 15 dS/m en cerdas reproductoras, 18,4 dS/m en explotaciones de ciclo cerrado, 25,4 dS/m cerdos de cebo, (Andrés, 2008); 47,32 dS/m (Caballero-Lajarín *et al.*, 2008); 37,97 dS/m (Domínguez *et al.*, 2010); entre 30,27 y 42,80 dS/m (Gómez-Garrido *et al.*, 2009); 23,2 dS/m (Suresh *et al.*, 2009); 6,83 dS/m (Wong *et al.*, 2009); 22 dS/m en cerdos de

alimentación líquida y 27,4 dS/m en cerdos de alimentación convencional, (Faz *et al.*, 2010); 19,1 dS/m (Sánchez-García *et al.*, 2010).

D) STS

El rango encontrado de STS en los purines de cerdo de diversos estudios ha sido muy amplio, entre 42 y 61.843 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores revisados en la bibliografía: 8.500 mg/L en Modena (Italia), 61.843 mg/L en Barcelona (España), 10.499 mg/L Murcia (España) y 7.842 mg/L en Goshen (USA), (Martínez *et al.*, 2005); 10.250 mg/L (Rufete *et al.*, 2006); 9.000 mg/L (Caballero-Lajarán *et al.*, 2008); 42 mg/L (Suresh *et al.*, 2009); 28.244 mg/L (Sánchez-García *et al.*, 2010).

E) SS

La concentración de SS en purines de cerdo encontrado en un estudio fue 398 mL/L (Moral *et al.*, 2005). El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es ligeramente inferior al observado.

F) STD

El valor medio de STD en purines de cerdo de este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es bastante más bajo con respecto al valor observado que el valor obtenido por Suresh *et al.* (2009), que fue 380.000 mg/L.

G) DBO₅

El rango de valores de DBO₅ encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 2.908 y 26.667 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados. El estudio bibliográfico llevado a cabo muestra una gran variabilidad en los valores de este parámetro en función del tipo de purín estudiado: 14.200 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 10.200 mg/L en Modena (Italia), 12.000 mg/L en Barcelona (España), 7.200 mg/L en Murcia (España) y 10.200 mg/L en Goshen (USA), (Martínez *et al.*, 2005); 5.000 mg/L (Rufete *et al.*, 2006); 2.908 mg/L (Tofant *et al.*, 2006); 26.667 mg/L (Domínguez *et al.*, 2010); 20.563 mg/L (Suresh *et al.*, 2009); 8.543 mg/L (Sánchez-García *et al.*, 2010).

H) DQO

El rango de valores encontrado de DQO en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 1.527 y 115.000 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados: 15.000-70.000 mg/L (Bellido *et*

al., 1997); entre 5.000 y 25.000 mg/L (Hall, 1999); 73.020 mg/L (Bonmatí, 2001); 1.527 mg/L (Vanotti y Hunt, 2001); 73.020 mg/L (Campos *et al.*, 2004); 31.600 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 21.633 mg/L en Modena (Italia), 58.137 mg/L en Barcelona (España), 17.533 mg/L en Murcia (España) y 21.283 mg/L en Goshen (USA), (Martínez *et al.*, 2005); 16.613 mg/L (Rufete *et al.*, 2006); 20.000 mg/L (Domínguez *et al.*, 2010); 57.679 mg/L (Suresh *et al.*, 2009); 97.000-115.000 mg/L (Massé *et al.*, 2010); 11.656 mg/L (Sánchez-García *et al.*, 2010).

I) PT

El rango de valores de PT encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 30 y 5.900 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados. Los valores obtenidos en los principales trabajos consultados se muestran a continuación: entre 1.900 y 5.800 mg/L (Vetter y Steffens, 1986); 820 mg/L (Bernal, 1990); 6.000 mg/L (Castillón, 1993); 3.180 mg/L (De la Torre y Rueda 1997); 3.800 mg/L en lechones, 4.700 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado y 5.900 mg/L en cebadero (Europactizyme, 1999); entre 1000 y 12.000 mg/L (Hall, 1999); 1.380 mg/L (Bonmatí, 2001); 1.400 mg/L (Sánchez, 2001); 137 mg/L (Plaza, 2002); 1.380 mg/L (Campos *et al.*, 2004); 580 mg/L en Modena (Italia), 1.103 mg/L en Barcelona (España), 255 mg/L en Murcia (España) y 612 mg/L en Goshen (USA), (Martínez *et al.*, 2005); 760 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 820 mg/L (Sánchez y González, 2005); 123- 270 mg/L (Gómez-Garrido *et al.*, 2009); 30 mg/L (Sánchez y González, 2005).

J) Cu

El rango de valores de Cu encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 0,7 y 574 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados: 37 mg/L (Duthion, 1979); 53 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 574 mg/L (Meeus-Verdinne *et al.*, 1979); 35 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); entre 3 y 60 mg/L (Ferrer *et al.*, 1983); 36 mg/L en Lorca y 23 mg/L en la Región de Murcia, Costa Yagüe, 1987); 13 mg/L (Bernal, 1990); 40 mg/L (CEMAGREF, 1990); 40 mg/L (Castillón, 1993); 40 mg/L (Meeus- Verdinne *et al.*, 1993); 36 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Cataluña) (Navés y Torres, 1994); entre 62 y 67 mg/L en cerdos de engorde, entre 3 y 19,1 mg/L en cerdas de maternidad y entre 34,5 y 36 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado, (Prat, 1995); 30 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); 35 mg/L (De la Torre y Rueda 1997); 351 mg/L (Nicholson *et al.*, 1999); entre 184 y 574 mg/L (Hall, 1999); 15 mg/L (Cavo *et al.*, 2000); 40 mg/L (Bonmatí, 2001); 33 mg/L (Sánchez,

2001); 4 mg/L (Plaza, 2002); 40 mg/L (Campos *et al.*, 2004); 0,7-1,3 mg/L (Llona, 2005); 13,3 mg/L (Sánchez y González, 2005).

K) Zn

El rango en los valores de Zn observado en diversos trabajos ha sido entre 0,9 y 919 mg/L, encontrándose el valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) dentro de este intervalo. Los valores de Zn en los principales trabajos consultados ha sido: 50 mg/L (Duthion, 1979); 70 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 919 mg/L (Meeus-Verdinne *et al.*, 1979); 39 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); 18-48 mg/L (Ferrer *et al.*, 1983); 34 mg/L en Lorca y 23 mg/L en la Región de Murcia, (Costa Yagüe, 1987); 25 mg/L (Bernal, 1990); 64 mg/L (CEMAGREF, 1990); 64 mg/L (Castillón, 1993); 64 mg/L (Meeus-Verdinne *et al.*, 1993); 65 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Cataluña) (Navés y Torres, 1994); entre 48 y 70,7 mg/L en cerdos de engorde, entre 19 y 68,8 mg/L cerdas de maternidad y entre 38,7 y 64,6 mg/L explotaciones de Ciclo cerrado (Prat, 1995); 30 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); 39 mg/L (De la Torre y Rueda 1997); 61 mg/L (Lobera *et al.*, 1998); 575 mg/L (Nicholson *et al.*, 1999); 403-919 mg/L (Hall, 1999); 21 mg/L (Cavo *et al.*, 2000); 66 mg/L (Bonmatí, 2001); 45 mg/L (Sánchez, 2001); 12 mg/L (Plaza, 2002); 66 mg/L (Campos *et al.*, 2004); entre 0,9 y 2,2 mg/L (Llona, 2005); 24,7 mg/L (Sánchez y González, 2005).

L) NT

El rango encontrado en los valores de NT en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 1.400 y 26.500 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados, aunque se debe destacar que es bajo con respecto al resto de valores observados en los principales estudios: 4.480 mg/L (Duthion, 1979); 5.100 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 8.890 mg/L (Lemconte, 1979); 4.280 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); 3.440 mg/L en cerdas de maternidad, 4.300 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado y 6.000 mg/L en cerdos de cebo, (Ferrer *et al.*, 1983); 4.590 mg/L (Bertrand y Smagghe, 1985); 5.700 mg/L (Vetter y Steffens, 1986); 3.700 mg/L en Lorca y 2.450 mg/L en la Región de Murcia, (Costa Yagüe, 1987); 3.200 mg/L (Bernal, 1990); entre 4.000 y 5.500 mg/L (CEMAGREF, 1990); 4.000 mg/L (Costa Yagüe, 1991); entre 2.500 y 6.500 mg/L (Voorburg, 1991); 5.000 mg/L (Bertrand, 1993); entre 4.300 y 7.000 mg/L (Meeus-Verdinne *et al.*, 1993); entre 8.700 y 10.600 mg/L (Piva *et al.*, 1993); 5.500 mg/L (Castillón, 1993); 5.620 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Cataluña) (Navés y Torres, 1994); 4.720 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); 4.300-7.000 mg/L (Bellido *et al.*, 1997); 5.500 mg/L (De la Torre y Rueda 1997); 3.500 mg/L en cerdas de maternidad y 4.000 mg/L en cerdos de cebo, (Thibaudeau, 1997); 4.550 mg/L (Lobera *et al.*, 1998); 4.000 mg/L en explotaciones con lechones y 6.500 mg/L en los de cebadero,

(Europactizyme, 1999); entre 2.000 y 16.000 mg/L (Hall, 1999); 3.900 mg/L en explotaciones de gestación y 5.240 mg/L en lechonerías, (Cavo *et al.*, 2000); 5.980 mg/L (Bonmatí, 2001); 4.070 mg/L (De la Torre *et al.*, 2001); 4.100 mg/L (Sánchez, 2001); 2.800 mg/L (Plaza, 2002); 5.630 mg/L (Bonmatí y Flotats, 2003); 5.980 mg/L (Campos *et al.*, 2004); entre 1.400 y 2.400 mg/L en purín bruto y entre 20.800 y 26.500 mg/L en purín seco, (Llona, 2005); 2.370 mg/L en Modena (Italia), 5.469 mg/L en Barcelona (España), 1.082 mg/L en Murcia (España) y 1.910 mg/L en Goshen (USA), (Martínez *et al.*, 2005); 2.580 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 3.220 mg/L (Sánchez y González, 2005); entre 10.480 y 18.060 mg/L (Ros *et al.*, 2006); 2.125 mg/L (Rufete *et al.*, 2006); 3.800 mg/L (Caballero-Lajaráin *et al.*, 2008); entre 3.830 y 6.700 mg/L (Gómez-Garrido *et al.*, 2009); 3.030 mg/L (Wong *et al.*, 2009); 3.100 mg/L en cerdos de alimentación líquida y 3.900 mg/L en cerdos de alimentación convencional, (Faz *et al.*, 2010); entre 6.600 y 5.900 mg/L (Massé *et al.*, 2010); 2.600 mg/L (Sánchez-García *et al.*, 2010).

M) N-NH_4^+

El rango de valores de N-NH_4^+ encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 748 y 5.500 mg/L. El valor medio en este estudio (Tab. IV.1.1.) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados destacando por ser bajo con respecto al resto. 2,86 mg/L (Duthion, 1979); 3.000 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 5.500 mg/L (Lecomte, 1979); 3.000 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); 3.020 mg/L (Bertrand y Smagghe, 1985); 2.160 mg/L en Lorca y 1.560 mg/L en la Región de Murcia, (Costa Yagüe, 1987); 1.860 mg/L (Bernal, 1990); entre 2.600 y 3.500 mg/L (CEMAGREF, 1990); 2.200 mg/L (Costa Yagüe, 1991); entre 1.300 y 5.500 mg/L (Voorburg, 1991); 3.500 mg/L (Bertrand, 1993); 3.180 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Cataluña) (Navés y Torres, 1994); 3.600 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); entre 1.400 y 3.500 mg/L (Bellido *et al.*, 1997); 2.000 mg/L en cerdas de maternidad y 2.500 mg/L en cerdos de cebo, (Thibaudeau, 1997); 2.860 mg/L (Lobera *et al.*, 1998); 2.380 mg/L en cerdos de gestación y 2.970 mg/L en Lechonerías, (Cavo *et al.*, 2000); 4.540 mg/L (Bonmatí, 2001); 2.260 mg/L (De la Torre *et al.*, 2001); 2.300 mg/L (Sánchez, 2001); 2.300 mg/L (Plaza, 2002); 3.390 mg/L (Bonmatí y Flotats, 2003); 4.540 mg/L (Campos *et al.*, 2004); 1.200-2.000 mg/L (Llona, 2005); 2.066 mg/L en Modena (Italia), 3.368 mg/L en Barcelona (España), 952 mg/L en Murcia (España) y 1.840 mg/L en Goshen (USA) (Martínez *et al.*, 2005); 2.010 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 1.860 mg/L (Sánchez y González, 2005); 748- 905 mg/L (Ros *et al.*, 2006); 1.767 mg/L (Rufete *et al.*, 2006); 890 mg/L (Tofant *et al.*, 2006); 2.900 mg/L (Caballero-Lajaráin *et al.*, 2008); entre 3.310 y 5.220 mg/L (Gómez-Garrido *et al.*, 2009); 2.400 mg/L (Monroy *et al.*, 2009); 1.860 mg/L (Wong *et al.*, 2009); 2.200 mg/L en explotaciones de alimentación líquida y 3.000 mg/L en explotaciones de alimentación

convencional (Faz *et al.*, 2010); entre 4.100 y 5.100 mg/L (Massé *et al.*, 2010); 2.100 mg/L (Sánchez-García *et al.*, 2010).

N) NO

El rango de valores de NO encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 570 y 3.390 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es ligeramente más bajo que el intervalo de los valores observados.

Los principales estudios consultados presentan valores en este parámetro de 1,62 mg/L (Duthion, 1979); 2.100 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 3.390 mg/L (Lecomte, 1979); 1.280 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); 1.570 mg/L (Bertrand y Smagghe, 1985); 1.540 mg/L en Lorca y 890 mg/L en la Región de Murcia, (Costa Yagüe, 1987); entre 1.400 y 1.500 mg/L (CEMAGREF, 1990); 1.800 mg/L (Costa Yagüe, 1991); 1.000-1.200 mg/L (Voorburg, 1991); 1.500 mg/L (Bertrand, 1993); 2.440 mg/L en explotaciones de Ciclo cerrado (Navés y Torres, 1994); 1.120 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); 1.500 mg/L (Thibaudeau, 1997); 1.690 mg/L (Lobera *et al.*, 1998); 1.500 mg/L en explotaciones de Gestación y 1.600 mg/L en Lechoneras (Cavo *et al.*, 2000); 1.540 mg/L (Bonmatí, 2001); 1.810 mg/L (De la Torre *et al.*, 2001); 2.240 mg/L (Bonmatí y Flotats, 2003); 1.540 mg/L (Campos *et al.*, 2004); 570 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 750 mg/L (Sánchez y González, 2005); 880 mg/L (Caballero-Lajarán *et al.*, 2008); 760 mg/L (Sánchez-García *et al.*, 2010).

Ñ) NO₃⁻

El rango de valores de NO₃⁻ encontrado en purines de cerdo en la bibliografía en los valores de diversos estudios ha sido entre 31,67 y 595 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es ligeramente más bajo del intervalo de los valores observados. Como ejemplo se destacan los valores aportados por los siguientes estudios: entre 133 y 595 mg/L (Ros *et al.*, 2006); 58,53 mg/L (Tofant *et al.*, 2006); 31,67 mg/L (Domínguez *et al.*, 2010); 250 mg/L (Monroy *et al.*, 2009); 39 mg/L (Sánchez-García *et al.*, 2010).

O) Cl⁻

El rango de valores de Cl⁻ encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 710 y 2.125 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es ligeramente más bajo que los valores del intervalo mostrado. Los valores de Cl⁻ en los principales estudios consultados han sido de 910 mg/L en Lorca y 720 mg/L en la Región de Murcia (Costa Yagüe, 1987); 710 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); 1.070 mg/L (Lobera *et al.*, 1998); entre 925 y 1.127 mg/L (Llona, 2005); 925 mg/L (Sánchez y González, 2005); 2.125 mg/L (Tofant *et al.*, 2006).

En este estudio el contenido Cl^- (626 mg/L) fue menor que el de K^+ (976 mg/L) y mayor al contenido de Na^+ (299 mg/L) (**Tab. IV.1.1.**). Otros estudios presentaron un contenido de K^+ similar al contenido de Cl^- , y considerablemente más alto que el contenido de Na^+ (Sánchez y González, 2005). A diferencia del resto de elementos, éstos se encontraron principalmente en la fase líquida del purín, debido a su alta solubilidad, algo que también observó (Duthion, 1979).

P) Br^-

El valor medio de Br^- ha resultado ser bastante bajo (**Tab. IV.1.1.**) con respecto al resto de aniones analizados en el purín. No se han encontrado valores de este elemento en otros estudios.

Q) SO_4^{-2}

El rango de valores de SO_4^{-2} encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido de 158-2.850 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados destacando por ser bajo. Entre los estudios consultados destacamos los valores de 2.850 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); entre 158 y 522 mg/L (Llona, 2005).

R) Na^+

El rango de valores de Na^+ encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 235 y 1.200 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados destacando por ser bajo. Se han encontrado los siguientes valores en la bibliografía consultada: 500 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 920 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); entre 700 y 1.200 mg/L (Ferrer *et al.*, 1983); 260 mg/L (Bertrand y Smagghe, 1985); 235 mg/L (Bernal, 1990); 1.000 mg/L (CEMAGREF, 1990); 800 mg/L (Costa Yagüe, 1991); 1.000 mg/L (Castillón, 1993); 1.000 mg/L (Meeus-Verdinne *et al.*, 1993); 570 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Navés y Torres, 1994); 660 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); 420 mg/L (Lobera *et al.*, 1998); 300 mg/L (De la Torre *et al.*, 2001); 800 mg/L (Sánchez, 2001); 484 mg/L (Plaza, 2002); entre 474 y 664 mg/L (Llona, 2005); 235 mg/L (Sánchez y González, 2005).

S) K^+

Los valores de K^+ en purines de cerdo observados en diversos estudios se encuentran entre 530 y 7.360 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados destacando por ser bajo. Los valores encontrados en la bibliografía consultada han sido: 1.730 mg/L (Duthion, 1979);

2.200 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 6.970 mg/L (Lecomte, 1979); 2.760 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); 2.300 mg/L en cerdas de maternidad, 2.800 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado y 3.270 mg/L en cebaderos (Ferrer *et al.*, 1983); 3.500 mg/L (Vetter y Steffens, 1986); 2.750 mg/L en Lorca y 1.700 mg/L en la Región de Murcia, (Costa Yagüe, 1987); 1.008 mg/L (Bernal, 1990); entre 2.500 y 3.000 mg/L (CEMAGREF, 1990); 2.100 mg/L (Costa Yagüe, 1991); 3.000 mg/L (Bertrand, 1993); 2.500 mg/L (Castillón, 1993); entre 2.400 y 6.400 mg/L (Meeus- Verdinne *et al.*, 1993); 2.810 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Cataluña) (Navés y Torres, 1994); 2.400 mg/L (PROYTEC 20 SL, 1995); 1.500 mg/L en cerdas de maternidad, 2.000 mg/L en cerdos de cebo, (Thibaudeau, 1997); 2.760 mg/L (De la Torre y Rueda 1997); 2.220 mg/L (Lobera *et al.*, 1998); 4.000 mg/L en explotaciones con lechones, 2.300 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado y 2.800 mg/L en cebadero (Europactizyme, 1999); entre 2.000 y 9.000 mg/L (Hall, 1999); 4.830 mg/L (Bonmatí, 2001); 2.100 mg/L (De la Torre *et al.*, 2001); 2.300 mg/L (Sánchez, 2001); 530 mg/L (Plaza, 2002); 4.830 mg/L (Campos *et al.*, 2004); entre 1.183 y 1.911 mg/L (Llona, 2005); 2.260 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 1.008 mg/L (Sánchez y González, 2005); entre 3.450 y 7.360 mg/L (Gómez-Garrido *et al.*, 2009); 1.020 mg/L (Wong *et al.*, 2009).

T) Ca^{+2}

El rango de valores de Ca^{+2} encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 325 y 10.800 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es más bajo que los valores encontrados en la bibliografía: 1.390 mg/L (Duthion, 1979); 4.000 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 4.700 mg/L (Lecomte, 1979); 2.150 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); 1.200-3.500 mg/L (Ferrer *et al.*, 1983); 3.700 mg/L (Vetter y Steffens, 1986); 1.100 mg/L (Bernal, 1990); entre 3.000 y 5.000 mg/L (CEMAGREF, 1990); 3.000 mg/L (Bertrand, 1993); 5.000 mg/L (Castillón, 1993); entre 3.300 y 6.400 mg/L (Meeus-Verdinne *et al.*, 1993); 3.960 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Cataluña) (Navés y Torres, 1994); 2.150 mg/L (De la Torre y Rueda 1997); 350 mg/L (De la Torre *et al.*, 2001); 325 mg/L (Plaza, 2002); entre 271 y 416 mg/L (Llona, 2005); 10.800 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 1.103 mg/L (Sánchez y González, 2005).

U) Mg^{+2}

Los valores de Mg^{+2} observados en la bibliografía se hallan dentro del intervalo de 46-1.550 mg/L. El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores encontrados en la bibliografía consultada, siendo: 600 mg/L (Duthion, 1979); 790 mg/L (Germon *et al.*, 1979); 1.550 mg/L (Lecomte, 1979); 510 mg/L (Ferrer *et al.*, 1981); entre 300 y 700 Ferrer *et al.*, 1983); 1.200 mg/L (Vetter y Steffens, 1986); 222 mg/L (Bernal, 1990); entre 1.000 y 1.500 mg/L (CEMAGREF, 1990); 1.000

mg/L (Bertrand, 1993); 1.500 mg/L (Castillón, 1993); ,10.000-1.900 mg/L (Meeus-Verdinne *et al.*, 1993); 1.300 mg/L en explotaciones de ciclo cerrado (Cataluña) (Navés y Torres, 1994); 510 mg/L (De la Torre y Rueda 1997); 46 mg/L (Plaza, 2002); entre 51 y 358 mg/L (Llona, 2005); 1.120 mg/L (Moral *et al.*, 2005); 222 mg/L (Sánchez y González, 2005).

W) AM

El valor medio de AM en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es superior al observado por Tofant *et al.* (2006), que fue de 4,84 Log (UFC/mL).

Y) CT

El rango de valores de CT encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 2,78 y 6,79 Log (UFC/mL).

El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) es ligeramente más bajo del intervalo de los valores observados: 6,79 Log (UFC/mL), (Bicudo y Svoboda, 1995); 5,70 Log (UFC/mL), (Rufete *et al.*, 2006); 3,84 Log (UFC/mL), (Tofant *et al.*, 2006); entre 2,78 y 6,18 Log (UFC/mL), (Massé *et al.*, 2010); 4,43 Log (UFC/mL), (Suresh *et al.*, 2009).

Z) CF

El rango de valores de CF encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre aproximadamente 0 y 6,67 Log (UFC/mL).

El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) se encuentra dentro del intervalo de los valores observados: 6,15 Log (UFC/mL), (Bicudo y Svoboda, 1995); entre aproximadamente 0 y 6,52 Log (UFC/mL), (Côté *et al.*, 2006); 3,90 Log (UFC/mL), (Rufete *et al.*, 2006); 3,84 Log (UFC/mL), (Tofant *et al.*, 2006); 6,67 Log (UFC/mL), (Wong *et al.*, 2009); entre 2,40 y 6,20 Log (UFC/mL), (Massé *et al.*, 2010).

AA) EF

El rango de valores de EF encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 5,10 y 8,41 Log (UFC/mL). El valor medio en este estudio (**Tab. IV.1.1.**) está por debajo de este intervalo.

Cabe destacar que los principales valores consultados son 8,41 Log (UFC/mL), (Bicudo y Svoboda, 1995); entre 5,10 y 5,20 Log (UFC/mL), (Ros *et al.*, 2006); 6,70 Log (UFC/mL), (Wong *et al.*, 2009).

AB) *Escherichia coli*

El rango de valores de *Escherichia coli* encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre 2,10 y 6,64 Log (UFC/mL). En este estudio (**Tab. IV.1.1.**) este microorganismo se ha determinado cualitativamente siendo escasas las ocasiones que resultaron positivas.

En los estudios consultados se han observado los siguiente valores: 6,41 Log (UFC/mL), ([Côté et al., 2006](#)); entre 4,30 y 3,86 Log (UFC/mL), ([Petkov et al., 2006](#)); entre 2,10 y 2,90 Log (UFC/mL), ([Ros et al., 2006](#)); 5,10 ([Suresh et al., 2009](#)); 6,64 Log (UFC/mL), ([Wong et al., 2009](#)); entre 2,60 y 5,76 ([Massé et al., 2010](#)).

AC) *Salmonella* y *Shigella*

El rango de valores de *Salmonella* encontrado en purines de cerdo de diversos estudios ha sido entre aproximadamente 0 y 7,32 Log (UFC/mL).

En este estudio (**Tab. IV.1.1.**) estos dos géneros se han determinado cualitativamente, siendo escasas las ocasiones que resultaron positivas. De hecho la presencia de *Shigella* resultó negativa en todos los casos. En los estudios consultados se han observado los siguientes valores: ausencia ([Ros et al., 2006](#)); 3,54 Log (UFC/mL), ([Suresh et al., 2009](#)); 7,32 Log (UFC/mL), ([Wong et al., 2009](#)); entre menores a 2 y 4,70 Log (UFC/mL), ([Massé et al., 2010](#)).

IV.1.2. Relaciones entre parámetros.

Los contenidos de nutrientes disponibles en purines de cerdo no son fáciles de cuantificar in situ, sin laboratorios, pero los análisis químicos usando los métodos estándar también llevan tiempo, son costosos y no muy prácticos en la mayoría de las granjas.

Los análisis en laboratorios comerciales a pesar de ser más fiables implican 1 y 2 semanas para conseguir los resultados, lo que hace que no sea práctico cuando la aplicación del purín o estiércol se debe hacer inmediatamente. Por lo tanto, cuando los purines se aplican al suelo, su potencial fertilizante es a menudo desconocido ([Ndegwa y Zhu, 2003](#)).

Además, en los últimos años, los cambios en la gestión de la industria del cerdo han cambiado también la naturaleza de los purines de cerdo, disminuyendo el contenido de materia seca y consecuentemente los métodos y las ecuaciones usadas para la estimación del contenido de nutrientes se debe revisar, ([Moral et al., 2005](#)).

Por tanto, es crítico determinar con precisión el contenido de nutrientes de estiércol o purines para evitar riesgos medioambientales. El contenido de nutrientes depende mucho del número de muestras y de los métodos de muestreo (Ndegwa y Zhu, 2003).

Actualmente, el contenido de nutrientes del estiércol o purines puede ser obtenido de:

(1) Valores publicados (ASAE, 1993); MWPS, 1985); Lorimor *et al.*, 1997); Campbell *et al.*, 1997); Killorn y Lorimor, 1999) basados en la media de las muestras de estiércol o purín de una región particular.

(2) Usando algunos métodos rápidos (método del hidrómetro o densímetro, electrodo de amonio, análisis mediante kits de campo y “Nitrogen Meter” que mide la presión de gas nitrógeno en una cámara de reacción).

(3) Análisis de muestras en laboratorios analíticos.

Los valores publicados pueden ser poco fidedignos debido a elevadas variaciones de los nutrientes en estiércol o purín. Los resultados de métodos rápidos hasta ahora han mostrado que aunque se pueden usar para obtener estimaciones aceptables de nutrientes, no pueden remplazar los análisis en laboratorio aprobados por los métodos estandarizados (Chescheir *et al.*, 1985); Piccinini y Bortone, 1991).

Por consiguiente, el conocimiento de un rango de propiedades permite proveer estimaciones prácticas y útiles de concentraciones de nutrientes en purines pero debemos saber que aunque optimizan tiempo y costes están limitadas al purín de la zona de estudio.

Por tanto, se debe poner especial atención a las posibles correlaciones entre ciertos parámetros fáciles de determinar como el pH, CE, densidad, Eh, materia seca y nutrientes en purines de cerdo para estimar la aplicación como fertilizante en suelos agrícolas (Scotford *et al.*, 1998a).

En la **tab. IV.1.2.** se muestran las correlaciones obtenidas en este estudio de acuerdo al test de Spearman para muestras no normalizadas para las distintas variables analizadas en el purín de cerdo. Ver Índice de Abreviaciones.

Tabla IV.1.2. Correlaciones bivariadas (valor de *R*) entre los parámetros analizados en el purín.

	T	E	pH	CE	STS	SS	STD	DBO ₅	DQO	PT	Cu	Zn	NT
Eh	-0,2***												
pH	ns	0,3***											
CE	0,2***	-0,4***	-0,2***										
STS	0,2***	-0,3***	-0,3***	0,4***									
SS	ns	-0,1***	-0,2***	ns	0,5***								
STD	0,2***	-0,4***	-0,2***	1***	0,4***	ns							
DBO ₅	0,1***	-0,5***	-0,2***	0,7***	0,4***	0,1***	0,7***						
DQO	0,1**	-0,2***	-0,1***	0,5***	0,6***	0,4***	0,5***	0,7***					
PT	ns	0,2***	ns	ns	0,4***	0,5***	ns	-0,1**	0,5***				
Cu	ns	-0,1***	-0,1***	0,2***	0,6***	0,5***	0,2***	0,1***	0,6***	0,7***			
Zn	ns	ns	ns	0,2***	0,5***	0,5***	0,2***	ns	0,6***	0,8***	0,9***		
NT	0,2***	-0,4***	-0,3***	0,8***	0,7***	0,3***	0,8***	0,7***	0,7***	0,3***	0,5***	0,5***	
N-NH ₄ ⁺	0,2***	-0,4***	-0,3***	0,8***	0,6***	0,2***	0,8***	0,7**	0,6***	0,1***	0,4***	0,4***	0,9***
NO	0,1*	-0,2***	-0,1***	0,3***	0,5***	0,4***	0,3***	0,4***	0,6***	0,4***	0,5***	0,5***	0,7***
NO ₃ ⁻	ns	0,2***	ns	0,1**	ns	ns	0,1**	-0,1*	0,1**	0,2**	0,2***	0,2**	ns
Cl ⁻	0,3***	-0,3***	ns	0,6***	0,2***	-0,2***	0,6***	0,3**	0,2***	-0,1***	0,2***	0,1***	0,4***
Br ⁻	0,1***	0,2***	0,1***	0,1***	0,4***	0,3***	0,1***	ns	0,4***	0,6***	0,6***	0,7***	0,3***
SO ₄ ²⁻	-0,1*	0,2***	0,1*	-0,2***	ns	0,3***	-0,1**	-0,1***	0,2***	0,5**	0,3***	0,3***	-0,1*
Na ⁺	0,2***	-0,3***	0,1*	0,5**	0,1***	-0,3***	0,5***	0,3***	0,1*	-0,2***	0,1*	ns	0,3***
K ⁺	0,3***	-0,4***	ns	0,7***	0,2***	-0,2***	0,7**	0,5***	0,2***	-0,1***	0,2***	0,1***	0,5***
Ca ⁺²	0,1***	ns	-0,1***	0,2***	0,2***	ns	0,2***	0,1***	ns	-0,1***	0,1***	0,1**	0,3***
Mg ⁺²	ns	0,5***	0,2***	-0,3***	ns	0,2**	-0,3***	-0,3***	ns	0,3***	ns	0,1***	-0,2***
AM	ns	-0,2***	0,1*	ns	0,4***	0,5***	ns	0,2***	0,4***	0,4***	0,4***	0,4***	0,2***
CT	ns	-0,3***	-0,3***	ns	0,6***	0,8***	ns	0,2***	0,5***	0,5***	0,5***	0,5***	0,4***
CF	ns	-0,1***	-0,2***	ns	0,5***	0,7***	ns	ns	0,5***	0,6***	0,6***	0,6***	0,3***
EF	0,1*	-0,4***	-0,3***	ns	0,6***	0,8***	ns	0,3***	0,6***	0,5***	0,5***	0,5***	0,5***
	N-NH ₄ ⁺	NO	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	SO ₄ ²⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	AM	CT	CF
NO	0,4***												
NO ₃ ⁻	ns	ns											
Cl ⁻	0,5***	0,1***	0,2***										
Br ⁻	0,3***	0,3***	0,2***	0,2***									
SO ₄ ²⁻	-0,2***	0,2***	0,3***	ns	0,3***								
Na ⁺	0,4***	ns	0,2***	0,9***	ns	-0,1***							
K ⁺	0,6***	0,1***	0,1***	0,9***	0,1***	-0,2***	0,9***						
Ca ⁺²	0,3***	ns	-0,1**	0,1***	0,1*	-0,3***	0,2***	0,3***					
Mg ⁺²	-0,3***	ns	ns	-0,1***	0,2**	0,5***	-0,2***	-0,3***	0,1*				
AM	0,1*	0,4***	-0,1*	ns	0,3***	0,3***	-0,1*	ns	0,1*	0,2**			
CT	0,3***	0,4***	-0,3***	-0,3***	0,3***	0,1**	-0,5***	-0,3***	0,3**	0,2**	0,4***		
CF	0,2***	0,5***	-0,2**	-0,3***	0,5***	0,3***	-0,4***	-0,4***	0,2**	0,3***	0,4***	0,8***	
EF	0,4***	0,5***	-0,3***	-0,3***	0,3***	0,1**	-0,4***	-0,3***	0,3***	0,2***	0,5***	0,8***	0,7***

*, **, *** indican diferencias significativas a $P < 0,05$, $P < 0,01$ y $P < 0,001$ respectivamente; ns: sin diferencias significativas. Correlación de Spearman para 1305 muestras no normalizadas. Ver Índice de Abreviaciones

A) T

La T no mostró correlaciones significativas con el pH, SS, PT, Cu, Zn, NO_3^- , Mg^{+2} , AM, CT y CF, ($P>0,05$). Por el contrario, si mostró correlaciones significativas con Eh, CE, STS, STD, DBO_5 , NT, N-NH_4^+ , Cl^- , Br^- , Na^+ , K^+ y Ca^{+2} ($P<0,001$), DQO ($P<0,01$) y NO y SO_4^{-2} ($P<0,05$). Los valores de coeficiente de correlación fueron bastante bajos por lo que de acuerdo a los resultados obtenidos la T no puede ser usada para estimar el contenido de las variables correlacionadas. Otros investigadores (Dragun, 1978; Tunney, 1979; Chescheir *et al.*, 1985; Piccinini y Bortone, 1991; Scotford *et al.* 1998; Ndegwa *et al.*, 2002; Ndegwa y Zhu, 2003; Moral *et al.*, 2005; Sánchez y González, 2005) no observaron correlaciones entre la T y otros parámetros analizados.

B) Eh

El Eh no mostró correlaciones significativas con Zn y Ca^{+2} ($P>0,05$). Por el contrario, si mostró correlaciones significativas con T, E, pH, CE, STS, SS, STD, DBO_5 , DQO, PT, Cu, NT, N-NH_4^+ , NO, NO_3^- , Cl^- , Br^- , SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , AM, CT, CF y EF ($P<0,001$). Los valores del coeficiente de correlación fueron bajos; destacaron algunos ligeramente menos bajos como DBO_5 ($R= -0,5$) y Mg^{+2} ($R= 0,5$), por lo que de acuerdo a los resultados obtenidos el Eh no puede ser usado para estimar el contenido de las variables correlacionadas. Otros investigadores (Dragun, 1978; Tunney, 1979; Chescheir *et al.*, 1985; Piccinini y Bortone, 1991; Scotford *et al.* 1998; Ndegwa *et al.*, 2002; Ndegwa y Zhu, 2003; Moral *et al.*, 2005; Sánchez y González, 2005) no mostraron correlaciones entre esta variable y otras estudiadas.

C) pH

El pH no mostró correlaciones significativas con T, PT, Zn, NO_3^- , Cl^- y K^+ , ($P>0,05$). Por el contrario, si mostró correlaciones significativas con Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DBO_5 , DQO, Cu, NT, N-NH_4^+ , NO, Br^- , Ca^{+2} , Mg^{+2} , CT, CF y EF ($P<0,001$), y SO_4^{-2} , Na^+ y AM ($P<0,05$). Los valores de coeficiente de correlación fueron bastante bajos por lo que de acuerdo a los resultados obtenidos el pH no puede ser usado para estimar el contenido de las variables correlacionadas, algo que concuerda con los estudios realizados por otros investigadores (Dragun, 1978; Tunney, 1979; Chescheir *et al.*, 1985; Piccinini y Bortone, 1991; Scotford *et al.* 1998; Ndegwa *et al.*, 2002; Ndegwa y Zhu, 2003; Moral *et al.*, 2005; Sánchez y González, 2005).

D) CE

La CE no mostró correlaciones significativas con SS, PT, AM, CT CF y EF ($P>0,05$). Por el contrario, si mostró correlaciones significativas con T, Eh, pH, CE, STS,

STD, DBO₅, DQO, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, Br⁻, SO₄²⁻, K⁺, Ca⁺², y Mg⁺² ($P < 0,001$), y NO₃⁻, Cl⁻ y Na⁺ ($P < 0,01$). Excepto para el caso de los STD, ($R = 1$) que fueron determinados teóricamente a partir de la CE, los valores del coeficiente de correlación fueron bajos para la mayoría de las correlaciones, destacando algunos más altos como DBO₅, ($R = 0,7$), DQO ($R = 0,5$), NT ($R = 0,8$), N-NH₄⁺ ($R = 0,8$), Cl⁻ ($R = 0,6$), Na⁺ ($R = 0,5$) y K⁺ ($R = 0,7$). Por lo tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos la CE podría ser usada para predecir la tendencia de variables tales como NT y N-NH₄⁺ según se observa en la **Tab. IV.1.4.** y **Fig. IV.1.1.a)** y **b)**. Otros investigadores ([Moral et al., 2005](#)) encontraron que la CE pareció ser el parámetro determinado más apropiado y fácil para la estimación del NT, N-NH₄⁺, y K⁺ en purines de cerdo, algo que concuerda con nuestro estudio. Además, la CE podría ser un indicador factible para las especies iónicas en el purín de cerdo, tales como el NH₄⁺, K⁺, Cl⁻, y Na⁺ ([Moral et al., 2005](#)), pero no es tan bueno para parámetros orgánico-dependientes, tales como el PT o el NO, o el contenido total de cationes polivalentes tales como el Mg⁺² o Ca⁺². [Stevens et al. \(1995\)](#) encontró que en los purines de reses y de cerdo, el catión predominante era el NH₄⁺ seguido del K⁺ en base molar, y la concentración de cada uno de estos cationes fue significativamente correlacionada con la CE.

E) STS

Los STS no mostraron correlaciones significativas con NO₃⁻, SO₄²⁻ y Mg⁺², ($P > 0,05$). Por el contrario, sí mostraron correlaciones significativas con Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, Cl⁻, Br⁻, Na⁺, K⁺, Ca⁺², AM, CT, CF y EF, ($P < 0,001$). Los valores de coeficientes de correlación más altos encontrados fueron para PT ($R = 0,4$), SS ($R = 0,5$), DQO ($R = 0,6$), Cu ($R = 0,6$), Zn ($R = 0,5$), NT ($R = 0,7$), N-NH₄⁺ ($R = 0,6$), NO ($R = 0,5$), CT ($R = 0,6$), CF ($R = 0,5$) y EF ($R = 0,6$).

De acuerdo con los resultados obtenidos, no es fiable usar los STS para estimar el contenido de las variables estudiadas. Los valores de R obtenidos en este estudio para el NT y PT son menores de los que cabría esperar según los estudios realizados por otros investigadores ([Dragun, 1978](#); [Tunney, 1979](#); [Chescheir et al., 1985](#); [Piccinini y Bortone, 1991](#); [Scotford et al. 1998](#); [Ndegwa et al., 2002](#); [Ndegwa y Zhu, 2003](#); [Moral et al., 2005](#); [Sánchez y González, 2005](#)), aunque mayor para el caso del NT que el obtenido por [Ndegwa y Zhu, 2003](#). [Piccinini y Bortone \(1991\)](#) encontraron una alta correlación lineal entre el NT y STS en purines de cerdos en Italia.

Tabla IV.1.3. Relaciones del purín encontradas en otros estudios.

Variable	Ecuación de regresión (NT ó PT= K_1+K_2 STS)*	Coefficiente de regresión (R)	Fuente
STS frente NT	NT= 1194+424 STS	0,92	Tunney (1979)
	NT= 3753+186 STS	0,28	Referencias*
	NT= 362+598 STS	0,95	Dragun (1978)
	NT= 2433+396 STS	0,88	Chescheir <i>et al.</i> (1985)
	NT= 1095+600 STS	0,90	Piccinini y Bortone, (1991)
	NT= 3363+415 STS	0,95	Ndegwa <i>et al.</i> (2002)
	NT= 4261+136 STS	0,24	Ndegwa y Zhu, (2003)
	NT= 563+45216 STS	0,48	Nuestro estudio
STS frente PT	PT= -117+232 STS	0,92	Tunney (1979)
	PT= 305+186 STS	0,75	Referencias*
	PT= 112+239 STS	0,94	Dragun (1978)
	PT= -112+334 STS	0,77	Chescheir <i>et al.</i> (1985)
	PT= 26+269 STS	0,84	Scotford <i>et al.</i> (1998)
	PT= 320+312 STS	0,88	Piccinini y Bortone, (1991)
	PT= 264+383 STS	0,85	Ndegwa <i>et al.</i> (2002)
	PT= 200+267 STS	0,85	Ndegwa y Zhu, (2003)
	PT= 38+11 STS	0,17	Nuestro estudio

*Recopilado por Chescheir *et al.* (1985) de otras fuentes bibliográficas.
NT y PT en mg/L, STS en %; K_1 y K_2 coeficientes.

Según se observa en la **tab. IV.1.3.**, los coeficientes de regresión de las ecuaciones obtenidas entre sólidos totales y nitrógeno o entre sólidos totales y PT en otros estudios son bastante comparables. Es obvio que los términos absolutos tales como los definidos por los coeficientes K_1 y K_2 en todas las ecuaciones de regresión sean tan variados como autores. Estas diferencias no son sorprendentes dado a los cambios dinámicos en las dietas del cerdo con los años, las diferentes dietas en los distintos países, diferentes dietas en función a las edades de los cerdos, y finalmente diferentes sistemas de gestión tanto para los cerdos como para el purín o estiércol (Ndegwa y Zhu, 2003).

F) SS

Los SS no mostraron correlaciones significativas con T, CE, STD, NO_3^- , y Ca^{+2} ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostraron correlaciones significativas con Eh, pH, STS, SS, DBO_5 , DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO, Cl^- , Br^- , SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ , AM, CT, CF y EF ($P<0,001$), y Mg^{+2} ($P<0,01$). Los valores de los coeficientes de correlación más altos fueron para los CT ($R= 0,8$), CF ($R= 0,7$), EF ($R = 0,8$), y para el PT, Cu, Zn y AM ($R = 0,5$).

De acuerdo con otros investigadores, como (Moral *et al.*, 2005) los SS, podrían ser una determinación barata y fácil para estimar el contenido de PT en purines, aunque en nuestro estudio no se ha presentado un valor de correlación muy alto.

G) STD

Los STD no mostraron correlaciones significativas con SS, PT, AM, CT CF y EF ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostraron correlaciones significativas con T, Eh, pH, CE, STS, STD, DBO₅, DQO, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, Br⁻, SO₄⁻², K⁺, Ca⁺², y Mg⁺² ($P<0,001$), y NO₃⁻, Cl⁻ y Na⁺ ($P<0,01$). Esta variable por haber sido calculada a partir de la CE, sus correlaciones son coincidentes entre ellas de acuerdo al apartado anterior D).

H) DBO₅

La DBO₅ no mostró correlaciones significativas con Zn, Br⁻ y CF ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DBO₅, DQO, Cu, NT, NO, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², AM, CT y EF ($P<0,001$), PT, N-NH₄⁺, Cl⁻ ($P<0,01$) y NO₃⁻ ($P<0,05$). Algunos de los coeficientes de correlación fueron $R = -0,5$ para el Eh, y $R = 0,5$ para el K⁺. Los valores más altos fueron para la CE, STD, DQO, NT y N-NH₄⁺ ($R = 0,7$), algo que coincide con algunos de los resultados obtenidos por otros investigadores (Moral *et al.*, 2005).

I) DQO

La DQO no mostró correlaciones significativas con Ca⁺² y Mg⁺² ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, Cl⁻, Br⁻, SO₄⁻², K⁺, AM, CT, CF y EF ($P<0,001$), T, NO₃⁻ ($P<0,01$), y Na⁺ ($P<0,05$).

Los coeficientes de correlación fueron inferiores a 0,5 para la CE, STD, PT, CT y CF, de 0,6 para STS, Cu, Zn, N-NH₄⁺, NO y EF, y los más altos con un valor de $R = 0,7$ para DBO₅ y NT, algo que coincide con los resultados obtenidos por otros investigadores (Moral *et al.*, 2005).

J) PT

El PT no mostró correlaciones significativas con T, pH, CE y STD ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con Eh, STS, SS, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, Cl⁻, Br⁻, Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², AM, CT, CF, EF ($P<0,001$), y DBO₅, NO₃⁻ y SO₄⁻² ($P<0,01$).

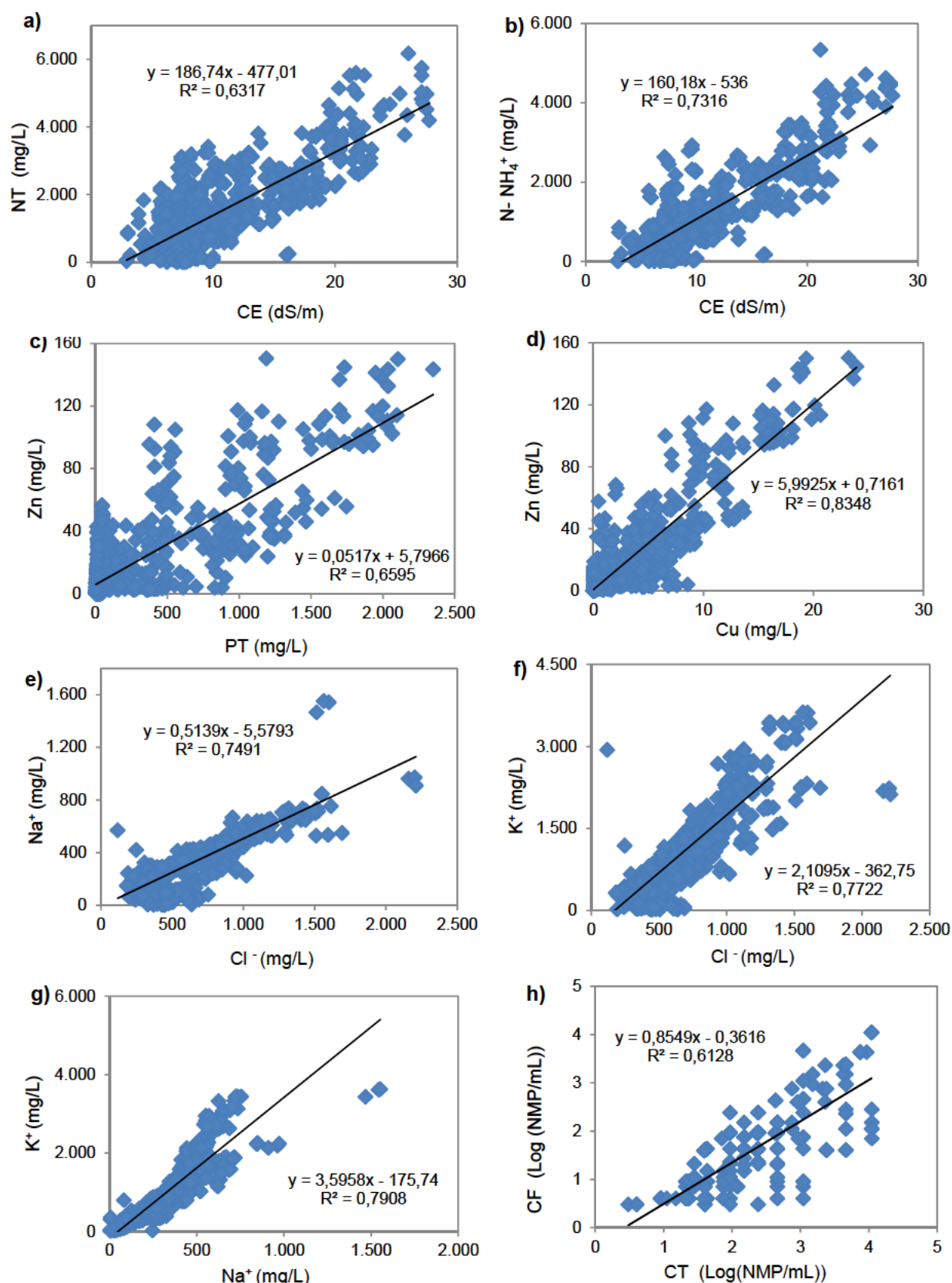


Figura IV.1.1. Representación gráfica de las variables correlacionadas en purín mediante regresiones lineales: a) NT-CE; b) N- NH_4^+ -CE; c) Zn-PT; d) Zn-Cu; e) Na^+ - Cl^- ; f) K^+ - Cl^- ; g) K^+ - Na^+ y h) CF-CT.

Los valores de coeficientes de correlación más altos han sido para el Cu ($R= 0,7$) y el Zn ($R= 0,8$). Por lo tanto, el PT es un buen indicador para estimar las concentraciones de Zn (**Tab. IV.1.4.** y **Fig. IV.1.1.c**).

De forma similar a otros estudios (Piccinini y Bortone, 1991; Stevens *et al.*, 1995; Scotford *et al.*, 1998a,b; Moral *et al.*, 2005), el contenido de PT en purines estuvo relacionado mejor con los parámetros relacionados con sólidos, tales como los SS o STS, que con la CE.

A diferencia de nuestro estudio, Scotford *et al.* (1998b) observaron que el PT estaba más íntimamente relacionado con el pH, en un amplio número de muestras de purines (cerdo y reses) para aplicación agraria en Reino Unido, Irlanda, Alemania e Italia. En los estudios de Moral *et al.* (2005), el PT mostró una correlación alta con el Ca^{+2} y el Mg^{+2} , probablemente debido a la formación de compuestos insolubles. Esto es un punto importante con los suelos calcáreos y el agua con alto contenido de Ca^{+2} y Mg^{+2} . Por lo tanto, en suelos calcáreos, sobre el 40% del PT del estiércol se fijó en formas no disponibles, tales como fosfatos cálcicos, un valor que podría acercarse al 71% en porcentajes de alta aplicaciones (Bernal *et al.*, 1993).

K) Cu

El Cu no mostró correlaciones significativas con T y Mg^{+2} ($P>0,05$). Por el contrario, si mostró correlaciones significativas con Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO, NO_3^- , Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , AM, CT, CF, EF ($P<0,001$) y Na^+ ($P<0,05$). El coeficiente de correlación más alto presentado ha sido con el Zn ($R= 0,9$). Por tanto, el Cu podría ser estimado a partir de la concentración de Zn además de la del PT anteriormente comentado (**Tab. IV.1.4.** y **Fig. IV.1.1.d**).

L) Zn

El Zn no mostró correlaciones significativas con T, Eh, pH, DBO₅ y Na^+ ($P>0,05$). Por el contrario, si mostró correlaciones significativas con CE, STS, SS, STD, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO, Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , AM, CT, CF, EF ($P<0,001$), NO_3^- y Ca^{+2} ($P<0,01$).

M) NT

El NT no mostró correlaciones significativas con NO_3^- ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO, NO_3^- , Cl^- , Br^- , Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , AM, CT, CF, EF ($P<0,001$), y SO_4^{2-} ($P<0,05$).

El NT ha sido una de las variables que ha presentado un mayor número de variables correlacionadas con valores de coeficiente de correlación más altos con respecto al resto de variables analizadas, destacando los coeficientes de correlación de $R=0,5$ para Cu, Zn, K^+ y EF, $R=0,7$ para STS, DBO_5 y DQO, $R=0,8$ para CE y STD, y $R=0,9$ para $N-NH_4^+$.

Por lo tanto, el NT se podría estimar a partir de la CE como puede verse en la **Tab. IV.1.4.** y **Fig. IV.1.1.a)** donde se muestran regresiones lineales simples entre el NT (variable dependiente) y la CE como variable independiente. De forma similar, en otros estudios ([Moral et al., 2005](#)), el NT presentó una correlación alta con la CE, DBO_5 , y DQO.

El valor medio de $N-NH_4^+$ obtenido en este estudio representa el 72% del NT, se trata de un valor próximo a los encontrados por otros investigadores. Según algunos estudios [Sánchez y González, 2005](#) sobre el 80% del nitrógeno en purín está en forma inorgánica, principalmente como $N-NH_4^+$. Este nitrógeno procede principalmente de la descomposición de la urea, como [Duthion et al. \(1979\)](#) indicaron.

Investigaciones anteriores ([Ndegwa et al., 2002](#)); [Tunney, 1979](#)); [Dragun, 1978](#)); [Chescheir et al., 1985](#)); [Piccinini y Bortone, 1991](#)); [Scotford et al., 1998](#)) mostraron que existe una relación lineal entre el NT y el PT en el estiércol y purín. Sin embargo, en este estudio la correlación encontrada entre el NT y el PT es bastante baja ($R=0,3$), muy diferente por la encontrada por [Ndegwa y Zhu \(2003\)](#) ($R=0,92$).

De acuerdo con [Ferrer et al. \(1983\)](#), la media del contenido de PT en materia fresca es sobre el 32% del NT. En nuestro estudio sin embargo el PT ha sido aproximadamente el 20% del NT. [Ndegwa y Zhu \(2003\)](#) encontraron que existía una pequeña correlación entre los STS y el NT ($R=0,24$). Sin embargo, en este estudio hemos obtenido un mayor grado de correlación ($R=0,7$).

N) $N-NH_4^+$

El $N-NH_4^+$ no mostró correlaciones significativas con NO_3^- ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DQO, PT, Cu, Zn, NT, $N-NH_4^+$, NO, NO_3^- , Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , CT, CF, EF ($P<0,001$), DBO_5 ($P<0,01$), y AM ($P<0,05$). Los coeficientes de correlación más destacados han sido $R=0,5$ para el Cl^- , $R=0,6$ para STS, DQO y K^+ , $R=0,7$ para DBO_5 , $R=0,8$ para CE y STD, y finalmente $R=0,9$ para NT.

Por lo tanto, de entre todas las variables la más adecuada para estimar el $N-NH_4^+$ es el CE y el NT. La **Tab. IV.1.4.** y la **Fig. IV.1.1.b)** muestran la regresión lineal simple obtenida entre CE y $N-NH_4^+$. [Moral et al., \(2005\)](#) encontraron que el $N-NH_4^+$ presentaba una correlación principalmente con la CE, DBO_5 , y DQO, observando una alta

contribución de la forma amoniacal en el NT (mayor a 75%). [Smith et al. \(1993\)](#) obtuvieron que el N-NH_4^+ provee la mejor aproximación del nitrógeno disponible en planta.

Ñ) NO

El NO no mostró correlaciones significativas con NO_3^- , Na^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} ($P>0,05$). Sí mostró correlaciones significativas con Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DBO_5 , DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO, NO_3^- , Cl^- , Br^- , SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , AM, CT, CF, EF ($P<0,001$) y T ($P<0,05$). Los coeficientes de correlación más destacados han sido $R=0,5$ para STS, Cu, Zn, CF y EF, $R=0,6$ para DQO y $R=0,7$ para NT. De forma similar, [Moral et al., \(2005\)](#), observaron que el NO se correlacionaba principalmente con DBO_5 y DQO ($P<0,001$), SS ($P<0,01$), CE y STS ($P<0,05$).

O) NO_3^-

El nitrógeno en forma de NO_3^- no mostró correlaciones significativas con T, pH, STS, SS, NT, N-NH_4^+ , NO, Mg^{+2} , ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con Eh, Cu, NO_3^- , Cl^- , Br^- , SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , CT, EF ($P<0,001$), CE, STD, DQO, PT, Zn, Ca^{+2} , CF ($P<0,01$), y DBO_5 y AM ($P<0,05$). Los valores de coeficientes de correlación han sido bastante bajos en todos los casos. En la bibliografía consultada no se muestran correlaciones con este parámetro.

P) Cl^-

El anión Cl^- no mostró correlaciones significativas con pH, SO_4^{-2} y Na^+ ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, Eh, STS, SS, STD, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO, NO_3^- , Cl^- , Br^- , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} , AM, CT, CF y EF ($P<0,001$), y CE y DBO_5 ($P<0,01$). Los coeficientes de correlación más destacados fueron $R=0,5$ para N-NH_4^+ , $R=0,6$ para CE y STD y $R=0,9$ para Na^+ y K^+ . Por lo tanto, el Cl^- podría estimarse a partir de estos dos últimos cationes tal y como se observa en la **Tab. IV.1.4.** y **Fig. IV.1.2.e)** y **f)**. En la bibliografía consultada no se muestran correlaciones con este parámetro. La relación entre estos parámetros se debe fundamentalmente a que su presencia está ligada a la abundancia de Cl^- , Na^+ y K^+ en el agua de limpieza usada de las granjas.

Q) Br^-

El anión Br^- no mostró correlaciones significativas con DBO_5 y Na^+ ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO, NO_3^- , Cl^- , Br^- , SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ , AM, CT, CF, EF ($P<0,001$),

Mg⁺² ($P<0,01$) y Ca⁺² ($P<0,05$). Las mayores correlaciones se dieron con CF ($R= 0,5$), PT y Cu ($R=0,6$), y con el Zn ($R= 0,7$). En la bibliografía consultada no se muestran correlaciones con este parámetro.

R) SO₄⁻²

El anión SO₄⁻² no mostró correlaciones significativas con STS y Cl⁻ ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con Eh, CE, SS, DBO₅, DQO, Cu, Zn, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Br⁻, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², AM, CF ($P<0,001$), STD, PT, CT, EF ($P<0,01$), y T, pH y NT, ($P<0,05$). Los coeficientes de correlación más destacados fueron $R= 0,5$ con PT y Mg⁺². En la bibliografía consultada no se muestran correlaciones con este parámetro.

S) Na⁺

El catión Na⁺ no mostró correlaciones significativas con Zn, NO y Br⁻ ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, Eh, STS, SS, STD, DBO₅, PT, NT, N-NH₄⁺, NO₃⁻, Cl⁻, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², CT, CF, EF ($P<0,001$), CE ($P<0,01$), y pH, DQO, Cu y AM ($P<0,05$). Las mayores correlaciones se dieron entre este catión y CE ($R= 0,5$), STD ($R= 0,5$), CT ($R= -0,5$) y K⁺ ($R= 0,9$). Por lo tanto, el Na⁺ se puede estimar a partir del K⁺ ya que están altamente correlacionados. En la bibliografía consultada no se muestran correlaciones con este parámetro.

T) K⁺

El catión K⁺ no mostró correlaciones significativas con pH y AM ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, Eh, CE, STS, SS, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cl⁻, Br⁻, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², AM, CT, CF, EF ($P<0,001$) y STD ($P<0,01$). Los coeficientes de correlación más destacados fueron $R= 0,5$ para DBO₅ y NT, $R= 0,6$ para N-NH₄⁺, $R= 0,7$ para CE y STD y $R= 0,9$ para Na⁺. En la **Tab. IV.1.4.** y **Fig. IV.1.2. f) y g)** se muestran las regresiones lineales simples llevadas a cabo entre estos dos parámetros (K⁺ y Na⁺), con un coeficiente de regresión de $R^2 = 0,79$.

U) Ca⁺²

El catión Ca⁺² no mostró correlaciones significativas con Eh, SS, DQO y NO, ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con T, pH, CE, STS, STD, DBO₅, PT, Cu, NT, N-NH₄⁺, Cl⁻, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Ca⁺², EF ($P<0,001$), Zn, NO₃⁻, CT, CF ($P<0,01$), y Br⁻, Mg⁺² y AM ($P<0,05$). Los coeficientes de correlación fueron bastante bajos (**Tab. IV.1.2**).

W) Mg⁺²

El catión Mg⁺² no mostró correlaciones significativas con T, STS, DQO, Cu, NO, NO₃⁻ ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostró correlaciones significativas con Eh, pH, CE, STD, DBO₅, PT, Zn, NT, N-NH₄⁺, Cl⁻, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Mg⁺², EF ($P<0,001$), SS, Br⁻, CT, CF ($P<0,01$), y Ca⁺² y AM ($P<0,05$). Las mejores correlaciones fueron las obtenidas con Eh y SO₄⁻² ($R=0,5$) (**Tab. IV.1.2**).

Y) AM

Los AM no mostraron correlaciones significativas con T, CE, STD, Cl⁻ y K⁺ ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostraron correlaciones significativas con Eh, STS, SS, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, NT, NO, Br⁻, SO₄⁻², AM, CT, CF, EF ($P<0,001$), Mg⁺² ($P<0,01$), y pH, N-NH₄⁺, NO₃⁻, Na⁺ y Ca⁺² ($P<0,05$). Los coeficientes de correlación fueron bajos destacando las correlaciones entre los AM y SS y EF ($R=0,5$). Por lo tanto, no es posible llevar a cabo una estimación a partir de las variables con las que se correlaciona.

Z) CT

Los CT no mostraron correlaciones significativas con T, CE y STD ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostraron correlaciones significativas con Eh, pH, STS, SS, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cl⁻, Br⁻, Na⁺, K⁺, AM, CT, CF, EF ($P<0,001$), y SO₄⁻², Ca⁺² y Mg⁺² ($P<0,01$). Los coeficientes de correlación encontrados fueron $R=0,5$ para DQO, PT, Cu, Zn y Na⁺, $R=0,6$ para STS y $R=0,8$ para SS, CF y EF.

AB) CF

Los CF no mostraron correlaciones significativas con T, CE, STD, ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostraron correlaciones significativas con Eh, pH, STS, SS, DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, Cl⁻, Br⁻, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Mg⁺², AM, CT, CF, EF ($P<0,001$), y NO₃⁻ y Ca⁺² ($P<0,01$). Los coeficientes de correlación obtenidos fueron $R=0,5$ para STS, DQO, PT, Cu, Zn, NO y Br⁻, $R=0,7$ para SS y EF, y $R=0,8$ para CT. Se han llevado a cabo regresiones lineales entre CF y CT, obteniendo una ecuación con un coeficiente de regresión $R^2=0,61$ (**Tab. IV.1.4.** y **Fig. IV.1.2.h**).

AC) EF

Los EF no mostraron correlaciones significativas con CE y STD ($P>0,05$). Por el contrario, sí mostraron correlaciones significativas con T, Eh, pH, STS, SS, DQO, DBO₅, PT, Cu, Zn, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cl⁻, Br⁻, Na⁺, K⁺, Ca⁺², Mg⁺², AM, CT, CF, EF ($P<0,001$), y SO₄⁻² ($P<0,01$). Los coeficientes de correlación encontrados fueron $R=0,5$

para Cu, Zn, NT, NO y AM, $R=0,6$ para STS y DQO, $R=0,7$ para CF y $R=0,8$ para SS y CT.

Tabla IV.1.4. Regresiones lineales simples entre diferentes variables analizadas en el purín.

Variable dependiente	Ecuación	R^2
NT (mg/L)	$186,7 \text{ CE (dS/m)} - 477$	0,63
N-NH_4^+ (mg/L)	$160,2 \text{ CE (dS/m)} - 536$	0,73
Zn (mg/L)	$0,05 \text{ PT (mg/L)} + 5,8$	0,66
Zn (mg/L)	$6,0 \text{ Cu (mg/L)} + 0,7$	0,83
Na^+ (mg/L)	$0,5 \text{ Cl}^- \text{ (mg/L)} - 5,6$	0,75
K^+ (mg/L)	$2,1 \text{ Cl}^- \text{ (mg/L)} - 362,7$	0,77
K^+ (mg/L)	$3,6 \text{ Na}^+ \text{ (mg/L)} + 175,7$	0,79
CF (Log (NMP/mL))	$0,8 \text{ CT (Log (NMP/mL))} - 0,4$	0,61

**IV.2. EFICIENCIA DE
REMOCIÓN DE CARGA
CONTAMINANTE
CONTENIDA EN PURINES DE
CERDO MEDIANTE EL USO
DE UN CONJUNTO DE
TRATAMIENTOS EN
SECUENCIA.**

IV.2.1. Estudio de la eficiencia de los tratamientos.

Según los resultados obtenidos (**Fig. IV.2.1.-4**) la secuencia de cada uno de estos tratamientos sobre el purín bruto ha provocado unas variaciones con respecto a los valores medios de los parámetros estudiados. Por un lado, ha provocado un descenso de T del 7%, de CE del 19%, de STS del 89%, de SS del 100%, de STD del 19%, de DBO₅ del 90%, de DQO del 91%, de PT del 97%, de Cu del 96%, de Zn del 92%, de NT del 89%, de N-NH₄⁺ del 87%, de NO del 91%, de NO₃⁻ del 21%, de Br⁻ del 37%, de SO₄⁻² del 4%, de Ca⁺² del 42%, de AM del 9%, de CT del 78%, de CF del 70%, de EF del 75%, de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli* del 100%. Por otro lado, la secuencia de tratamientos ha provocado un aumento de Eh del 36%, de pH del 16%, de Cl⁻ del 41%, de Na⁺ del 52%, del K⁺ del 42% y del Mg⁺² del 23%.

A) Eficiencia de la secuencia de separador de fases, aireación-separador de fangos y decantación.

Si tenemos en cuenta el comportamiento de los parámetros en el conjunto en secuencia del separador de fases, aireación-separador de fangos y decantación, se ha producido un aumento del 7% de pH, del 1% de NO₃⁻, del 2% de Eh y un descenso del 3% de T, 3% de CE, 62% de STS, 91% de SS, 45% de DBO₅, 59% de DQO, 52% de PT, 42% de Cu, 39% de Zn, 25% de NT, 15% de N-NH₄⁺, 43% de NO, 6% de Cl⁻, 11% de Br⁻, 50% de SO₄⁻², 4% de Na⁺, 8% de K⁺, 5% de Ca⁺² y 36% de Mg⁺². Con respecto a los parámetros microbiológicos, se determinaron en las muestras de purín bruto, en la salida de los humedales y en las muestras de salida de la balsa; así que sus resultados se han discutido en el siguiente apartado B).

Por lo tanto, estas etapas previas al tratamiento de humedales son sumamente importantes porque permiten una elevada eliminación de STS, SS, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, y algunos iones como SO₄⁻² y Mg⁺². Su ausencia causaría la saturación de los humedales disminuyendo su eficiencia y longevidad.

La eficiencia de un proceso de separación sólido-líquido depende de diversos factores: tipología y composición de las deyecciones, tipo de separador, uso de aditivos químicos, condiciones de operación, etc. Esta dependencia explica la gran variabilidad en los rendimientos localizados en la bibliografía y dificulta la comparativa entre experiencias. En el caso de considerar la tecnología apropiada, y de acuerdo con algunos estudios es posible concentrar en la fase sólida (10-20% de la masa inicial) hasta el 80% del PT y el 50% del NT ([Burton y Turner, 2003](#)).

Trabajar con deyecciones recién generadas, así como evitar períodos prolongados de almacenaje de las fracciones ya separadas, permite evitar fenómenos de degradación incontrolada. Gracias a esta práctica de manejo es posible mejorar

eficiencias de separación (Møller *et al.*, 2002), reducir las emisiones de malos olores y las pérdidas por volatilización o la solubilización de determinados componentes.

Durante muchos años numerosos tratamientos a gran escala se han puesto a prueba para la eliminación de contaminantes contenidos en el purín de cerdo (Willers *et al.*, 1993; ten Have *et al.*, 1994).

Uno de los principales problemas que causa el almacenamiento de purines de cerdo son los malos olores. Numerosas técnicas han sido investigadas para evitar este problema. Entre estas técnicas el tratamiento aeróbico es una de ellas, sin embargo se deben diseñar estos sistemas tal que permitan minimizar las emisiones de amonio y otros compuestos volátiles de nitrógeno causados por unos niveles incorrectos de aireación (Westerman y Bicudo, 2002). En estos sistemas la principal función de un aireador es proveer de oxígeno a los microorganismos aeróbicos para convertirlos en fracción biodegradable de residuo en compuestos orgánicos e inorgánicos más simples (Zhu *et al.*, 2005). Un tratamiento de aireación permitió la eliminación del 53% del NT en el purín de cerdo (Beline y Martínez, 2002).

Bicudo y Svoboda (1995a,b) evaluaron cuatro ciclos diferentes de aireación para optimizar el proceso de depuración y obtener las mejores eficiencias en nitrógeno y carbono. El funcionamiento de la planta de tratamiento no fue significativamente afectado por una reducción del 60% de los tiempos de aireación, de casi 20 horas por día a 12 horas por día. Los porcentajes de eliminación altos parecieron estar relacionados con la baja aireación lograda a través de procesos de aireación intermitentes. La operación del sistema de tratamiento de fango de muy larga edad pareció resultar en una eliminación casi completa de materia biodegradable soluble alcanzando una eliminación del 90% de DQO. El desarrollo simultáneo de los procesos de nitrificación/desnitrificación en el tanque de aireación dio como resultado unos niveles bajos de N-NH_4^+ en el efluente final y una reducción del 95% de NT.

El proceso conocido como SOLEPUR, un tratamiento para la depuración de purines de cerdo, permitió eliminar el 99,9% de DQO, el 99,9% de PT y aproximadamente el 80% de NT (Martínez y Hao, 1999).

Walker *et al.* (2010) utilizaron un separador de fases de tornillo sinfín seguido del uso de una poliacrilamida como floculante y un espesador de fango con la obtención de elevadas eliminaciones de parámetros como SS (98,4% y 94,3%), STS (98,2% y 80,9%), NT (60,6% y 37,0%) y PT (91,7% y 70,9%).

Una separación correcta de sólidos de la fracción líquida del purín es crucial para un tratamiento exitoso de los purines de cerdo. Por esta razón, González-Fernández *et al.*

(2008) emplearon como técnica de separación un tamiz y un proceso de floculación. Para el tratamiento de floculación se empleó poliacrilamida (PAM) en un rango de entre 80 y 200 mg/L seguido de un separador de rejilla. Los mejores resultados se observaron cuando se usaron las dosis más altas (120 mg/L) de PAM sobre el purín. Los porcentajes de eliminación en la fracción líquida fueron el 73% para sólidos totales, 87% para sólidos volátiles, 98% para STS y sólidos volátiles, 71% para DQO, 40% para NT, y el 34% para PT soluble.

B) Eficiencia de los humedales.

Si nos centramos en el comportamiento de los parámetros en los humedales, observamos que en ellos se han producido aumentos del 1% de T, 64% de Eh, 70% de NO_3^- , 16% de Cl^- , 46% de SO_4^{2-} , 26% de Na^+ , 11% de K^+ y 36% de Mg^{+2} . Se han conseguido descensos del 4% de pH, 8% de CE, 86% de STS, 100% de SS, 8% de STD, 76% de DBO_5 , 75% de DQO, 90% de PT, 61% de Cu, 42% de Zn, 51% de NT, 48% de N-NH_4^+ , 66% de NO, 58% de Br^- , 21% de Ca^{+2} , 25% de AM, 74% de CT, 62% de CF, 72% de EF, y 100% de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*.

Por tanto, el uso de humedales ha permitido eliminar especialmente STS, SS, DBO_5 , DQO, PT, Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ y NO. La secuencia de tratamientos de separación de fases, espesado, decantación y los humedales ha permitido eliminar totalmente o la mayoría de los parámetros microbiológicos analizados tales como CT, CF, EF, *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*.

Las concentraciones de oxígeno disuelto se encuentran típicamente bajo saturación en los humedales. Esto fue algo que se observó en otros estudios de tratamiento de aguas residuales de origen ganadero con bajo contenido en oxígeno disuelto tanto a la entrada como salida del humedal (Knight *et al.*, 2000). En algunos sistemas de tratamiento de aguas residuales de origen ganadero se observó que la media de la concentración de oxígeno disuelto disminuyó de 2,5 a 1,6 mg/L (Knight *et al.*, 2000). Knight *et al.* (2000) mostraron además eficiencias de reducción del 21% en CE y del 15% en STD. En este mismo estudio se observó que la máxima de entrada en STS fue 11.300 mg/L y las eficiencias de reducción en la concentración media fueron del 65% de DBO_5 , del 53% de STS, del 48% de N-NH_4^+ , del 42% de NT y del 42% de PT. Además, las reducciones de estos parámetros fueron función de las concentraciones de entrada y los porcentajes de carga hidráulica.

Similarmente, Pope (1981) en EEUU encontró que humedales de *Phragmites australis* y *Scirpus lacustris* redujeron el 91% de los STS de 225 a 20 mg/L. En una granja de lácteos, la media de los STS a la entrada y salida de los humedales fueron 585 y 273 mg/L respectivamente, siendo el 53% de eficiencia (Knight *et al.*, 2000).

Finlayson *et al.* (1987) encontraron que el PT se redujo de 20 a 15 mg/L (25%), mientras que el ión fosfato, el cual representó casi el 60% del PT, no descendió su concentración. El PT está parcialmente eliminado por sedimentación, cuando reacciona con los minerales del medio poroso (Kadlec y Knight, 1996). El ión fosfato principalmente se eliminó por asimilación de la planta y adsorción sobre el sustrato (Kadlec y Knight, 1996).

Varios humedales artificiales mostraron que la DQO se redujo entre el 30 y el 40%, pero la media de la concentración de salida fue aún alta y por encima de 375 mg/L. Werblan *et al.* (1978), en EEUU, reportaron una reducción máxima de DQO del 50% en efluentes de purines en humedales artificiales. El uso de humedales artificiales para tratar aguas residuales municipales mostraron altas eficiencias (Puigagut *et al.*, 2007). En todo el mundo, se han logrado eficiencias de eliminación de DBO₅ y DQO con variaciones de entre el 75-93% y entre el 64-82%, respectivamente (Puigagut *et al.*, 2007). Esto está en concordancia con estudios previos que se centraron en el tratamiento de aguas residuales de origen doméstico con humedales de flujo horizontal mostrando eficiencias de eliminación sobre el 75% de DQO y el 80% de STS (Vymazal, 2005, Babatunde *et al.*, 2008). Las concentraciones medias disminuyeron de 1.004 a 536 mg/L con una eficiencia de reducción del 53% de la DQO para una instalación de aves de corral, (Knight *et al.*, 2000).

Knight *et al.* (2000) obtuvieron una media de concentraciones de entrada y salida de DBO₅ de 263 y 93 mg/L, con un porcentaje de eficiencia de reducción del 65%. En la granja de la Universidad Connecticut Kellogg, la media de las concentraciones de los efluentes de aguas residuales de origen lácteo de entrada y salida de DBO₅ fueron 3.162 mg/L (Knight *et al.*, 2000).

Finlayson *et al.* (1987), en un estudio sobre el tratamiento de efluentes porcinos mediante humedales artificiales, observaron que el NT disminuyó entre el 25 y el 35%, con un rango de concentraciones de entre 175 y 190 mg/L.

Para el caso de efluentes procedentes de un matadero de aves de corral el uso de humedales con *Typha spp.*, permitió reducir NT de 99 a 85 mg/L y de ortofosfato de 7 a 4 mg/L (Finlayson y Chick, 1983).

Uno de los más espectaculares resultados fue la reducción de nitrógeno de 71 a 2 mg/L y PT de 19 a 0,02 mg/L en el este de Alemania (Kickuth, 1976), aunque este éxito fue cuestionado por Paarmann (1984) y Kraft (1984). La mayoría de estos efluentes no están tan concentrados como lo están en los purines de cerdo.

En las aguas residuales de origen animal se concentran varias formas de nitrógeno. La mayoría de NT en las aguas residuales de origen ganadero se encuentra

bajo la forma amoniacal. En varias instalaciones de aves de corral, Knight *et al.* (2000) encontraron que el N-NH_4^+ correspondía al 82-84% del NT. La media de entrada y salida de N-NH_4^+ para todas estas instalaciones fue 122,2 y 63,7 mg/L alcanzando una reducción el 48%.

En muchos casos, al igual que ha sucedido en esta tesis hay un incremento en la concentración de NO_3^- en los efluentes a la salida de los humedales que se puede atribuir al hecho de que la nitrificación produjo más NO_3^- que lo que fue eliminado por desnitrificación. Vymazal (1999) mostró que la concentración de NO_3^- incrementó en los efluentes de los humedales en las zonas que se recibe el agua residual mezclado con agua de lluvia, lo que significa que en esas zonas no se da el proceso de desnitrificación. En las zonas donde se recibe el agua que no ha sido diluida por mezcla con agua de lluvia, se observó la reducción de los NO_3^- , lo que significa que en estas zonas es donde ha tenido lugar el proceso de desnitrificación. El motivo que explicó Vymazal (1999) para esto es que el oxígeno se agota en los humedales por bacterias heterotróficas en la estabilización de materia orgánica que permite la desnitrificación.

La disminución de los niveles de metales totales se dio al tiempo que los STS disminuían. Sheoran, y Sheoran (2006) obtuvieron resultados similares a los reportados en esta tesis, mostrando que más del 50% de los metales pesados se pueden adsorber en las partículas de la materia del humedal y por lo tanto se eliminan de la columna de agua. El Cu en general tiende a ser adsorbido más fuertemente que el Zn, el cual se mantiene más débil (Sheoran y Sheoran, 2006). El comportamiento del Zn se debe probablemente a los impactos adversos de la biota de los alrededores. Los resultados sugirieron que el mecanismo primario de eliminación de Zn debería ser adsorción de las especies metálicas en SS.

Los metales en sedimentos existen en varias formas incluyendo especies iónicas o complejas, acomplexadas con materia orgánica, embebidas en óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso, y atrapados en minerales primarios y secundarios. Las últimas fracciones son más inertes, permanentemente unidas a los sedimentos y menos disponibles (Tam y Wong, 1996).

En cuanto a los iones analizados los resultados obtenidos tras los humedales en esta tesis son parecidos a los encontrados por otros autores (Spangler *et al.*, 1976; Kadlec, 1978; Finlayson *et al.*, 1982; Wolverton, 1982; Finlayson *et al.*, 1987; Armstrong *et al.*, 1996; Chambers *et al.*, 1998; Drizo, *et al.*, 1999; Lee, 1999; Koch y Erskine, 2001; Pedersen *et al.*, 2004;).

Es bien sabido que la eficiencia de eliminación de bacterias fecales en los humedales artificiales es generalmente excelente, superando generalmente el 95%, pero varía con el tiempo de retención hidráulica, diseño del humedal, el porcentaje de carga hidráulica y masa, sustrato y T (Gersberg *et al.*, 1987; Haberl *et al.*, 1995; Potter y Karathanasis, 2001).

C) Eficiencia de las microalgas en la balsa abierta de almacenamiento.

Es conocido que los procesos basados en microalgas constituyen una tecnología rentable para la degradación de aguas residuales de origen ganadero (de Godos *et al.*, 2009a,b; Mulbry *et al.*, 2008). Los primeros estudios de biorremediación basados en algas se llevaron a cabo con aguas residuales de origen doméstico hace 50 años en California, en el laboratorio del Dr. Oswald (Oswald *et al.*, 1957). Las microalgas durante la fotosíntesis proveen del oxígeno que las bacterias heterótrofas necesitan para la degradación de la materia orgánica, mientras que las bacterias simultáneamente liberan el dióxido de carbono y nutrientes (NT y PT) que necesitan las microalgas. Algunos estudios han mostrado que la actividad de las microalgas está a menudo limitada en este microcosmos simbiótico debido a su alta sensibilidad hacia tóxicos (como NH₃ de las aguas residuales) y por las limitaciones inherentes al suministro de luz (Muñoz *et al.*, 2004; González *et al.*, 2008). Sin embargo, a pesar del hecho de que la microalgas juegan papel clave en los procesos de degradación, pequeños esfuerzos han sido realizados hasta ahora; algunos estudios se basan en la selección de las microalgas con un buen funcionamiento y la evaluación de la influencia de especies de microalgas en las funciones del proceso (Muñoz *et al.*, 2003). En este contexto, el criterio más importante para la selección de microalgas para el tratamiento de aguas residuales es la capacidad para soportar porcentajes de eliminación altos de carbono y nutrientes (normalmente asociados a elevadas velocidades altas de crecimiento). Con respecto a las microalgas que pueden tolerar el purín así como contribuir a la fijación de determinados elementos se han considerado algunas especies tales como *Spirulina platensis*, *Anabaena* (7120), *Chlorella vulgaris*, y *Pavlova viridis*. Características tales como la facilidad de sedimentación y una composición valiosa de biomasa debe ser considerada (microalgas procedentes del tratamiento de aguas residuales pueden ser una fuente de proteína, biocombustibles y biofertilizantes) (Wilkie y Mulbry, 2002; An *et al.*, 2003, Mulbry *et al.*, 2005).

En esta tesis inicialmente se pretendió realizar un cultivo en laboratorio de una microalga, *Anabaena sp* para añadirla a la balsa final de almacenamiento y que de esta manera mejorara a través de la biomasa generada por estas microalgas el proceso de

depuración del efluente previamente tratado por los tratamientos de separación sólido-líquido y el de humedales.

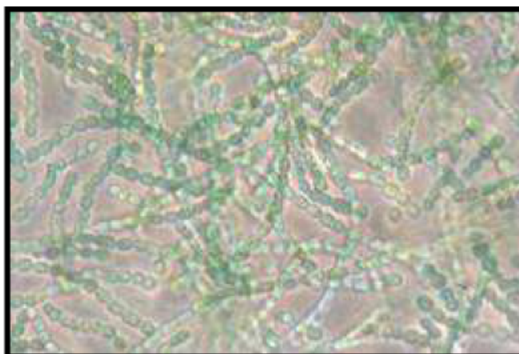


Foto IV.1. *Anabaena sp.*

Para ello se inoculó esta alga sobre muestras de purín diluidas según se ha explicado en el capítulo de metodología. El resultado para esta cepa fue que sólo sobrevivieron a concentraciones inferiores de 0,2%. Tras más de 4 semanas de cultivo se apreció que *Anabaena sp* comenzó a crecer también aunque alcanzando densidades muy bajas. Por lo tanto, los resultados no fueron satisfactorios.

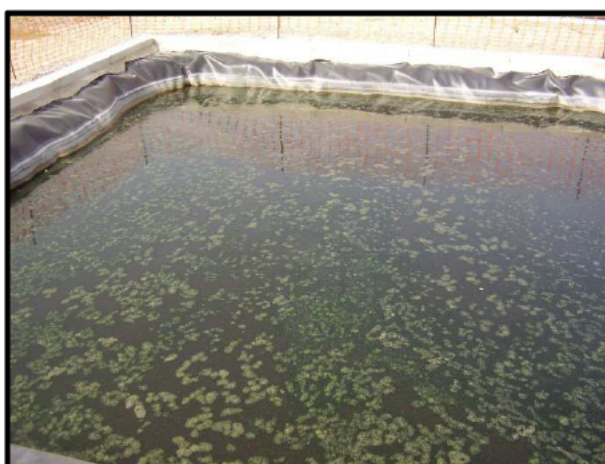


Foto IV.2. Afloraciones de microalgas en la balsa de almacenamiento.

Por otro lado, entre el primer y segundo año de desarrollo de los humedales se observaron que principalmente en primavera y en otoño se producían afloraciones de microalgas en las zonas superficiales de la balsa de almacenamiento (Foto IV.2) por lo que se optó por tomar muestras de estas microalgas crecidas en la propia balsa de almacenamiento para lograr identificarlas. Es conocido que el crecimiento de microalgas tiene lugar a rangos de T de entre 15 y 30 °C (Molina-Grima, 1999). A más baja T resulta una baja cinética metabólica mientras que a las más altas se aminora el crecimiento

microbiológico mediante estrés oxidativo (Molina-Grima, 1999). Además, cuando se opera en estos sistemas abiertos al incrementar las temperaturas algunos efectos secundarios tienen lugar tales como la precipitación de sales o reducción de la solubilidad de gases (O_2 y CO_2).

Tras el aislamiento de las mismas en laboratorio mediante la técnica de diluciones seriadas se logró identificar de entre ellas a través del microscopio una cepa de una clorofícea, del género *Scenedesmus*, también aislada por Godos *et al.* (2010); estos investigadores realizaron un estudio donde se evaluó el funcionamiento de dos microalgas verdes (*Chlorella sorokiniana* y *Scenedesmus obliquus*), una cianobacteria (*Spirulina platensis*), una euglenophyta (*Euglena viridis*) y dos consorcios de microalgas silvestres aisladas de balsas de purines de cerdo. El consorcio 1 de microalgas estuvo compuesto por el 74% de *Scenedesmus* sp, 16% de *Chlamydomonas* sp, 7% de *Microspora* sp, 1% de *Oocystis Chlorella* y 1% de *Nitzschia* sp. El consorcio 2 estaba compuesto principalmente por cepa de *Chlorella* sp, (Godos *et al.*, 2010).

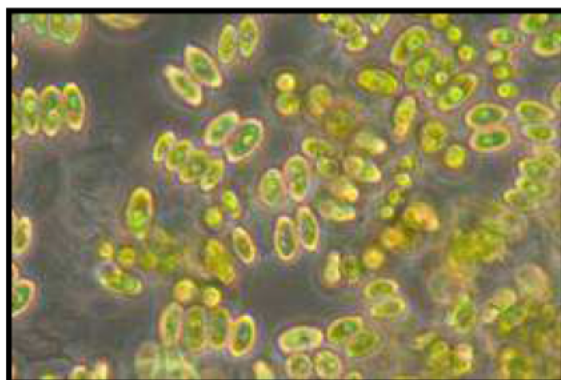


Foto IV.3. *Scenedesmus* sp

Las cepas aisladas, se mantuvieron en cultivo durante dos meses procediendo a su dilución con una periodicidad quincenal. La cepa aislada y cultivada se sometió al mismo tratamiento del experimento anterior con *Anabaena* sp. Con esta cepa se consiguió un rendimiento algo mayor, hasta una concentración del 2% de purín en el medio de cultivo. También ocurrió que tras 4-5 semanas de mantener los cultivos en las mismas condiciones el cultivo sobrevivió hasta una concentración de 5%.



Foto IV.4. *Anabaena sp* y *Scenedesmus sp*.

Los experimentos realizados mostraron que la nueva cepa aislada, presentó resultados algo mejores que los producidos por *Anabaena sp*. No obstante, los resultados indicaron también que las células son capaces de una ligera adaptación al medio de cultivo a concentraciones tolerables para éstas, por lo que las cepas son susceptibles de una cierta aclimatación a la concentración de purines.

Las Fig. IV.2.1-4, muestran los resultados obtenidos en la experiencia en campo en el último tratamiento. En la balsa abierta de almacenamiento por acción del consorcio microalgas-bacterias se ha producido un aumento del 14% de pH, 54% de STS (debido al crecimiento de microalgas), 34% de Cl^- , 40% de Br^- , 40% de SO_4^{2-} , 38% de Na^+ , 40% de K^+ , 23% de Mg^{+2} y 18% de AM. Por el contrario, se han conseguido descensos del 4% de T, 45% de Eh, 9% de CE, 100% de SS, 9% de STD, 23% de DBO_5 , 12% de DQO, 28% de PT, 83% de Cu, 77% de Zn, 69% de NT, 71% de N-NH_4^+ , 54% de NO, 76% de NO_3^- , 23% de Ca^{+2} , 14% de CT, 19% de CF y 12% de EF.

Por tanto, en este último tratamiento (biorremediación), debido en su mayor parte a la acción de las microalgas, una de ellas identificada como *Scenedesmus sp*, se han conseguido eliminaciones especialmente de Cu, Zn, NT, N-NH_4^+ , NO y NO_3^- . Hay que destacar la importancia de esta etapa por su capacidad de eliminar especialmente NO_3^- , ya que en los tratamientos previos no se ha conseguido y por ser uno de los parámetros tan contaminantes causantes de la eutrofización de las aguas.

IV.2.2. Evolución de los diferentes parámetros en la secuencia de tratamientos.

A) I

El rango de temperaturas durante el periodo de estudio ha sido variado, sin diferencias significativas entre las medias para los diferentes tratamientos ($P > 0,05$) (Fig. IV.2.1.a). Se observa, eso sí, una alta variabilidad en los datos debido a los cambios

estacionales, cuyas temperaturas se indican en el **capítulo IV.4.2**. Los valores medios de T y sus desviaciones estándar en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $18,9 \pm 4,5$ °C; $19,2 \pm 4,9$ °C.; $18,5 \pm 5,3$ °C; $18,2 \pm 5,8$ °C; $18,4 \pm 5,4$ °C y $17,6 \pm 5,6$ °C, respectivamente.

La elevación de la T estimula la descomposición de los fangos, la formación de gas, y la multiplicación de bacterias saprofitas y hongos. Las acciones sinérgicas de los contaminantes son más intensas a T altas (Finlayson *et al.*, 1987). En algunos estudios la T del agua presentó una variación con respecto a la T del aire de entre 0 y 3 °C, (Fountoulakis *et al.*, 2009). Los sustratos de los humedales y las raíces de las plantas mantienen la T del agua residual en invierno más alta que la T del aire entre 2 y 3 °C, permitiendo por tanto el funcionamiento continuo de la actividad microbiológica (Hiley, 2003).

B) Eh

El Eh es una medida de la actividad de los electrones. Está relacionado con el pH y con el contenido de oxígeno. Es análogo al pH ya que el pH mide la actividad de protones y el Eh mide la de los electrones.

Los valores de Eh (**Fig. IV.2.1.b**) mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de Eh tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron -391 ± 170 mV; -393 ± 170 mV; -341 ± 191 mV; -381 ± 172 mV; -138 ± 137 mV y -251 ± 160 mV, respectivamente.

Los valores medios del purín bruto tras el separador de fases y tras la decantación no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$), y fueron los valores más altamente negativos debido a las condiciones de anaerobiosis. Por el contrario, el resto de valores medios sí mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) encontrándose el valor menos negativo tras el tratamiento de humedales.

Después del humedal los valores de Eh se incrementan debido a la oxigenación del sistema. En los humedales artificiales se establecen dinámicamente interconexiones óxicas y anóxicas como resultado de las fluctuaciones del agua y procesos de difusión y advección del oxígeno a través de las columnas de agua y suelo, y el transporte activo de oxígeno a través de la rizosfera vía tejido de las plantas (D'Angelo, 2002).

Primero, la constitución progresiva de los intensos procesos redox y gradientes de oxígeno disuelto dan lugar secuencialmente a la creación de zonas adyacentes anaeróbicas y aeróbicas (Bezbaruah y Zhang, 2004; Wiessner *et al.*, 2005). Estas interconexiones son luego mecánica y químicamente prolongadas mediante actividades biogeoquímicas (Burken y Schnoor, 1998). El oxígeno se puede transferir a través de dos vías principales: (1) transferencia física desde la atmósfera hasta la columna de agua en el humedal; y (2) a través de los tejidos de las plantas mediante la liberación de oxígeno en la rizosfera (Tanner *et al.*, 2002).

C) pH

El pH (**Fig. IV.2.1.c**) mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de pH del purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $7,23 \pm 0,38$; $7,30 \pm 0,38$; $7,82 \pm 0,49$; $7,73 \pm 0,48$; $7,42 \pm 0,43$ y $8,62 \pm 0,66$; respectivamente. En todos los casos los valores medios de pH han sido neutros y alcalinos. De forma general, el PH depende de los iones en disolución, pero se ha observado que el comportamiento del pH en los humedales está ligado de forma especial con el comportamiento del ión Ca^{+2} . En los humedales, el valor de pH disminuye al disminuir el ión Ca^{+2} disuelto, que está precipitando en forma de carbonatos y fosfatos. El pH de valor más alto para el efluente correspondió tras la balsa de almacenamiento debido a la actividad de las microalgas.

El valor del pH normalmente se utiliza para estimar la disponibilidad de los nutrientes, ya que en un medio alcalino los nutrientes tienden a precipitar. Generalmente, el pH del purín en estado bruto o fresco es básico debido a la hidrólisis del NH_4^+ , que produce un efecto tampón (Carballas y Díaz-Fierros, 1990). Knight *et al.* (2000) reportaron valores de pH en el purín de entrada al humedal de 6,0-8,4; en la mayoría de los casos, el pH cambió muy poco entre la entrada y la salida de los humedales. Mashauri *et al.* (2000) detectaron un pH en una balsa superficial con algas de 10. Durante las horas de luz solar del día, las algas eliminan CO_2 del agua para el uso de la fotosíntesis y liberación de oxígeno, esto incrementa el pH entre 10 y 11 cuando el equilibrio de carbonato y bicarbonato se desestabiliza. Estos procesos se invierten en la oscuridad resultando variaciones con respecto a los pH diurnos y variaciones en el oxígeno disuelto (Sawyer y McCarty, 1978). En algunas ocasiones los descensos observados de pH fueron atribuidos probablemente a la dilución por eventos de precipitación.

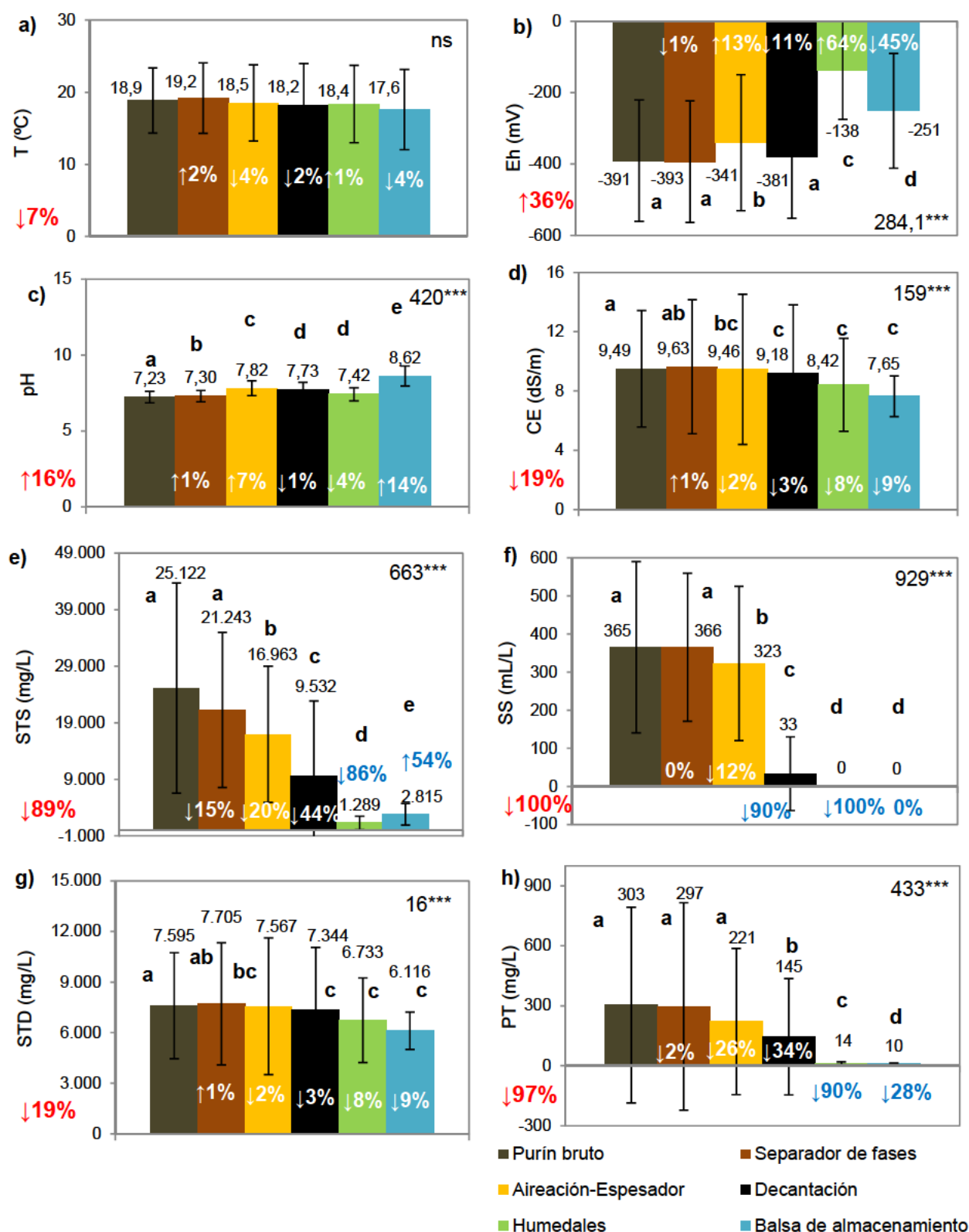


Figura IV.2.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purín en los diferentes tratamientos. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en blanco o azul indican la eficiencia de cada tratamiento. Los porcentajes en rojo indican la eficiencia del conjunto de tratamientos.

D) CE

Observamos diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a la CE entre los diferentes tratamientos (**Fig. IV.2.1.d**). Los valores de CE del purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $9,49 \pm 3,94$ dS/m; $9,63 \pm 4,52$ dS/m; $9,46 \pm 5,07$ dS/m; $9,18 \pm 4,63$ dS/m; $8,42 \pm 3,13$ dS/m y $7,65 \pm 1,38$ dS/m, respectivamente. Por lo tanto, la CE ha sido elevada, observándose el valor más bajo tras la balsa de almacenamiento sin diferencias significativas ($P > 0,05$) con los valores tras la decantación y los humedales, pero sí significativamente diferentes con el resto de tratamientos.

Aunque *P. australis* puede aclimatarse en condiciones salinas mediante supresión de transporte salino por lanzamiento o a través de secuestro o exclusión de sales (Flowers *et al.*, 1977), evidencias experimentales claramente indican que los niveles altos de salinidad perjudican su crecimiento, principalmente a través de estrés osmótico o toxicidad iónica o ambos (Lissner *et al.*, 1999a,b; Burdick *et al.*, 2001).

El bajo descenso o ligero incremento de conductividad a lo largo del humedal se puede deber a la liberación de sales del medio al agua provocado probablemente por las interacciones entre el sustrato y el biofilm (Kadlec y Knight, 1996) causando que el pH muestre en el humedal una tendencia a mantenerse neutro o ligeramente ácido. Los valores de CE en los humedales artificiales dependen de varios parámetros como el suelo, la composición de la grava, evapotranspiración, la actuación del tratamiento, entre otros (Fountoulakis *et al.*, 2009). Normalmente durante el tratamiento de aguas residuales los valores de CE disminuyen, sin embargo en los humedales artificiales la evapotranspiración y las interacciones con el suelo y el agua afectan al valor final de la conductividad (Fountoulakis *et al.*, 2009). En algunos estudios a pesar de las pérdidas de agua por evapotranspiración, a la salida la CE no fue significativamente diferente de la de entrada (Finlayson *et al.*, 1987). Finalmente en la balsa se produce un descenso de conductividad por acción de las algas, que absorben e inmovilizan las sales (Mashauri *et al.*, 2000).

E) STS, SS y STD

Conforme el purín se va sometiendo a los distintos tratamientos, se espera una disminución gradual de sólidos. Sin embargo, no se ha observado una disminución en los contenidos de sólidos en sus diferentes fracciones tras la separación de fases. Esto se debe a que la muestra de purín se tomó de la superficie de la fosa como consecuencia de la dificultad operacional y no del fondo donde existe mayor homogenización.

Los STS (**Fig. IV.2.1.e**) mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P<0,05$). Los valores del purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron 25.122 ± 18.582 mg/L; 21.243 ± 13.702 mg/L; 16.963 ± 12.042 mg/L; 9.532 ± 13.331 mg/L; 1.289 ± 1.200 mg/L; y 2.815 ± 1.912 mg/L, respectivamente.

La secuencia de tratamientos del sistema ha provocado un descenso significativo ($P<0,05$) de la cantidad de sólidos en suspensión. Esta tendencia descendente se mantuvo en la secuencia de tratamientos, siendo los descensos significativos en todo momento, destacando un ligero aumento de STS en la balsa de almacenamiento debido al crecimiento de microalgas especialmente en la superficie tal y como se ha mencionado anteriormente en la discusión de la eficiencia de la balsa.

Los humedales de flujo subsuperficial han sido probados por ser efectivos en el tratamiento de STS o DBO_5 , siendo los principales mecanismos de eliminación sedimentación, adsorción y metabolismo microbiológico (Green *et al.*, 1997; Leonard, 2000). En algunos humedales los STS y la turbidez disminuyeron, aunque los niveles de flujo a la salida fue relativamente alta, (Finlayson *et al.*, 1987).

Los SS (**Fig. IV.2.1.f**) también mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P<0,05$). Los valores del purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron 365 ± 225 mL/L; 366 ± 194 mL/L; 323 ± 203 mL/L; 33 ± 97 mL/L; 0 ± 0 mL/L y 0 ± 0 mL/L, respectivamente. Tras la decantación es donde mayor descenso se observa eliminándose por completo en los tratamientos siguientes.

Los tratamientos de separación de fases, aireación-espesado de fangos y decantación eliminaron al 100% la cantidad de SS. No se observaron problemas de obstrucción durante el periodo de operación en los humedales. En algunos estudios (Brix, 1997) no se observaron problemas de obstrucción durante el periodo de operación en los humedales plantados. En contraste, humedales sin planta sí se obstruyeron. Esto sugiere que *P. australis* provee buenas condiciones de filtración previniendo la obstrucción de los humedales (Brix, 1997).

Brix (1997) describió que las más altas eliminaciones de SS que actúan en sistemas con plantas son atribuidas a las más largas áreas, donde se redujeron las velocidades del agua y reforzaron los procesos de sedimentación y filtración mediante el mecanismo de raíces. Por lo tanto, teniendo en cuenta la eliminación de SS se han encontrado pocas diferencias entre humedales con y sin *P. australis*. Esto indica que la contribución de esta macrófita no fue considerable en los procesos físicos de eliminación

en humedales de flujo vertical inundados temporalmente (Tanner *et al.*, 1995; Thomas *et al.*, 1995).

Se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$) para los STD (**Fig. IV.2.1.g**). Los valores del purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron 7595 ± 3148 mg/L; 7705 ± 3617 mg/L; 7567 ± 4052 mg/L; 7344 ± 3701 mg/L; 6733 ± 2508 mg/L y 6116 ± 1103 mg/L, respectivamente.

El contenido general de sales en aguas residuales de origen ganadero se puede suponer a partir de medidas de CE y STD tal y como se ha descrito en el **capítulo III** de metodología. Los tratamientos de humedales artificiales tienen pocos efectos (dilución o concentración mediante precipitación-evapotranspiración) en concentraciones de STD (Knight *et al.*, 2000). Algunos estudios sobre humedales artificiales encontrados en la bibliografía mostraron valores de conductividad y STD más altos a la salida con respecto a la entrada. Esto puede deberse a la liberación de nutrientes regresando al agua como el resultado de la caída de la planta, incrementando el contenido de iones disueltos y por lo tanto la CE (Knight *et al.*, 2000).

F. PT

El PT (**Fig. IV.2.1.h**) mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de este parámetro en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $303,4 \pm 490,0$ mg/L; $297,0 \pm 518,7$ mg/L; $221,0 \pm 365,6$ mg/L; $144,9 \pm 290,3$ mg/L; $13,9 \pm 6,6$ mg/L y $10,0 \pm 3,6$ mg/L, respectivamente. No se han encontrado diferencias significativas entre los valores del purín bruto, tras el separador de fases y tras aireación-espesador de fangos. Tras la decantación, los humedales y en la balsa de almacenamiento por acción de las microalgas es donde mayores descensos se observaron.

Algunos autores han mostrado que la eliminación de PT tiene una dependencia de la temperatura, vegetación y el tamaño de poro y tipo de sustrato (Christos *et al.*, 2007). La selección del sustrato es un factor importante para la eliminación de NT y PT. Se encontró que los menores tamaños de poro, procedentes de lecho de un río (roca ígnea) contribuyen a una mayor eliminación de PT y NT que los cantos (Christos *et al.*, 2007). Esto era algo que se esperaba ya que el principal mecanismo de la eliminación del PT es la adsorción en el sustrato.

El lecho de los humedales artificiales generalmente tiene un importante potencial para eliminar PT (Vymazal *et al.*, 1998a). La cantidad de PT que se puede eliminar mediante cosecha de las plantas normalmente constituye sólo una pequeña fracción de la

cantidad de la carga de PT en el humedal con el agua residual (Brix, 1994, 1997). El PT se puede también unir al medio del carrizo principalmente como una consecuencia de reacciones de adsorción y precipitación con Ca^{+2} , Fe^{+2} y Al^{+3} en el sustrato de arena o grava.

A valores de pH mayores de 6 las reacciones son una combinación de adsorción física al hierro y óxidos de aluminio y precipitación como fosfatos de Ca^{+2} soluble moderadamente. A pH más bajos la precipitación como fosfatos de hierro y aluminio (variscita, strengita) se cobra importancia (Gerritse, 1993). La capacidad del carrizo para absorber fósforo puede por tanto ser dependiente del contenido de estos minerales en el sustrato.

Esta hipótesis se apoya en la observación de que la eliminación del PT se ha encontrado por ser particularmente eficiente en cañaverales que contienen arena ferruginosa (Netter, 1992). Sin embargo, la eficiencia de eliminación del PT es a menudo alta inicialmente y luego disminuye después de algún tiempo cuando la capacidad de adsorción de PT de la arena se agota (Ciupa, 1996). Esto es por tanto de gran importancia para seleccionar un medio de arena con una alta capacidad de adsorción de PT para obtener una apropiada eliminación de PT a largo plazo en los humedales artificiales. La eliminación de PT ha sido variable en la mayor parte de estudios consultados (Watson *et al.*, 1989; Mann, 1990; Jenssen *et al.*, 1993; Greenway y Woolley, 1999) porque los sustratos se seleccionan basándose en la disponibilidad local y tamaño de partícula para reducir obstrucciones sin considerar su capacidad de eliminar PT (Watson *et al.*, 1989; Mann, 1990).

Uno de los de los medios eco-tecnológicos de lograr una concentración baja de PT es el uso de sustratos especializados con propiedades físicas y químicas que contribuyan a la eliminación de PT, mientras que mantengan permeabilidad suficiente (House *et al.*, 1994). Los sustratos especializados usados para la eliminación de PT en humedales artificiales son piedra pómez, arena, LECA (Light Expanded Clay Aggregate, un medio poroso reactivo que consiste en partículas pequeñas, hinchadas y ligeras de arcilla quemada) y residuos industriales tales como escorias de altos hornos y cenizas voladoras (Jenssen *et al.*, 1993; Mann y Bavor, 1993; Nur Onar *et al.*, 1996).

La wollastonita, un metasilicato de Ca^{+2} extraído, es abundante en determinadas áreas, y barato, y se obtiene como subproducto en la producción de wollastonita pura. Algunos estudios preliminares han mostrado la eficacia de embalses de wollastonita en la eliminación de PT (Corrigan, 1993; Geohring *et al.*, 1995). La composición de este mineral se ha indicado por contener aproximadamente el 50% de CaO (Buckley, 1997).

La eliminación de PT en medios con alto contenido de Ca^{+2} típicamente se le atribuye por tener lugar procesos de adsorción (Iannou *et al.*, 1994; Nur Onar *et al.*, 1996) o precipitación química de fosfatos de Ca^{+2} (Hundal, 1988; House *et al.*, 1994; Agbenin, 1996). La precipitación química de PT mediante wollastonita da lugar a un mineral estable conocido como hidroxiapatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$). La concentración de equilibrio de este compuesto puede ser tan baja como $5,4 \times 10^{-4} \mu\text{g/L}$ (Brooks, 1997). La adsorción también es posible a través de intercambios tanto de iones o ligandos a la superficie del suelo.

Finalmente, en la balsa abierta, las microalgas durante la fotosíntesis asimilan el PT como nutriente haciendo que disminuya su concentración en el efluente (de Godos *et al.*, 2009a,b; Mulbry *et al.*, 2008).

G. DQO y DBO_5

La DQO y DBO_5 (Fig. IV.2.2.a,b) mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de estos parámetros en el purín bruto, tras el separador de fases, tras el espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron para el caso de DQO: $13.093 \pm 12.988 \text{ mg/L}$; $13.012 \pm 11.904 \text{ mg/L}$; $11.673 \pm 11.830 \text{ mg/L}$; $5.371 \pm 6.815 \text{ mg/L}$; $1.345 \pm 1.031 \text{ mg/L}$ y $1.184 \pm 414 \text{ mg/L}$, respectivamente y para el caso de DBO_5 : $4.804 \pm 6.754 \text{ mg/L}$; $4.556 \pm 5.895 \text{ mg/L}$; $4.381 \pm 6.153 \text{ mg/L}$; $2.648 \pm 4.061 \text{ mg/L}$; $629 \pm 701 \text{ mg/L}$; $482 \pm 332 \text{ mg/L}$, respectivamente. Como se puede observar, la variabilidad de este parámetro en las muestras analizadas es muy alta.

Los valores medios de ambos parámetros de los primeros tratamientos no muestran diferencias significativas ($P < 0,05$). Por el contrario, sí que se observan diferencias significativas tras el tratamiento de decantación, alcanzando el valor más bajo tras la balsa de almacenamiento sin diferencias significativas con los humedales ($P > 0,05$).

En un humedal artificial pueden ocurrir varios caminos de eliminación. Los principales procesos que afectan a las cargas orgánicas en los humedales son volatilización, oxidación fotoquímica, sedimentación, adsorción y degradación biológica, (Kadlec, 1992). Diferentes estudios han mostrado la capacidad de los humedales artificiales para reducir la DBO_5 y DQO (Werblan *et al.* 1978; Knight *et al.*, 2000; Vymazal, 2005; Christos *et al.*, 2007; Puigagut *et al.*, 2007; Babatunde *et al.*, 2008).

Por otro lado, en la última etapa las algas crecidas en la balsa han asimilado nutrientes contribuyendo en la disminución de DBO_5 y DQO, hecho observado en estudios anteriores (de Godos *et al.*, 2009a,b; Mulbry *et al.*, 2008).

H. NT, N-NH₄⁺ y NO

El NT (**Fig. IV.2.2.c**) mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P<0,05$). Los valores de este parámetro en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $1.527,4 \pm 997,5$ mg/L; $1.567,8 \pm 1.000,8$ mg/L; $1.467,2 \pm 1.049,5$ mg/L; $1.138,2 \pm 992,3$ mg/L; $563,4 \pm 445,7$ mg/L y $173,3 \pm 172,2$ mg/L, respectivamente. Hubo una gran variabilidad en los valores de este parámetro en las diferentes muestras analizadas.

El N-NH₄⁺ (**Fig. IV.2.2.d**) presentó diferencias significativas entre los tratamientos de estudio ($P<0,05$). Sus valores en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $1.105,1 \pm 807,8$ mg/L; $1.131,4 \pm 776,3$ mg/L; $1.092,8 \pm 854,1$ mg/L; $937,6 \pm 846,1$ mg/L; $483,0 \pm 426,7$ mg/L y $139,0 \pm 158,2$ mg/L, respectivamente. Como ocurría con el NT, el N-NH₄⁺ también presenta una alta variabilidad en sus valores.

Con respecto al NO (**Fig. IV.2.2.e**), éste también mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P<0,05$). Los valores de este parámetro mostraron una alta variabilidad, siendo de promedio en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento de $422,3 \pm 397,4$ mg/L; $445,6 \pm 426,1$ mg/L; $375,8 \pm 412,2$ mg/L; $240,8 \pm 448,2$ mg/L; $82,5 \pm 73,3$ mg/L y $38,0 \pm 30,8$ mg/L, respectivamente.

Todas las formas del nitrógeno han mostrado un comportamiento idéntico tras el paso de los distintos tratamientos. Se observa que no existen diferencias significativas con los valores medios respecto al purín bruto entre los dos primeros tratamientos ($P>0,05$). Sin embargo, sí que se observan diferencias significativas ($P<0,05$) entre el resto de tratamientos, disminuyendo especialmente tras los humedales y la balsa de almacenamiento.

El NT incluye todas las formas de nitrógeno que puedan existir, orgánicas e inorgánicas (excepto NO₃⁻ y NO₂⁻). Los mecanismos responsables del descenso de nitrógeno en los humedales son volatilización, asimilación por parte de las plantas y bacterias, adsorción y desnitrificación. Reddy y Patrick (1984) mostraron que la pérdida de nitrógeno debido a la volatilización es insignificante a pH por debajo de 7,5. Se ha mostrado además que la eliminación de nitrógeno por asimilación de la planta es

despreciable comparada con la carga de nitrógeno en los humedales artificiales (Brix, 1994). La conclusión a la que se llega es que el NT se reduce por la suma de un pequeño porcentaje de tres mecanismos que son la desnitrificación, adsorción y la incorporación a la masa del sustrato.

El amoníaco se puede eliminar en los humedales mediante nitrificación, adsorción, asimilación por parte de las plantas y bacterias, y volatilización. De acuerdo con Reddy y Patrick (1984), no se espera que la volatilización sea la responsable de esta reducción. Brix (1994) también mostró que las eliminaciones por asimilación de la planta son bajas. Esto significa que la nitrificación además de la adsorción son con toda probabilidad los responsables de la reducción de N-NH_4^+ .

El lecho de los humedales artificiales generalmente tiene un importante potencial para eliminar nitrógeno (Vymazal *et al.*, 1998a) porque el nitrógeno se puede convertir en nitrógeno gas y emitirse a la atmósfera como consecuencia de un proceso emparejado de nitrificación y desnitrificación. Como ya se ha comentado, la selección de poro de sustrato es un factor importante no solo para la eliminación de PT sino de NT.

La eliminación de NT y N-NH_4^+ depende de la T. De hecho, Christos *et al.* (2007) observaron que a T por encima de los 15 °C, cuando las plantas crecieron y la actividad microbiológica fue más favorable los valores de nitrógeno disminuyeron significativamente más que a T más baja.

I. NO_3^-

Se han observado diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los valores de NO_3^- en función de cada tratamiento (**Fig. IV.2.2.f**). Estos valores, que mostraron una alta variabilidad, fueron para el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento de 80 ± 104 mg/L; 82 ± 111 mg/L; 85 ± 110 mg/L; 81 ± 97 mg/L; 267 ± 272 mg/L y 63 ± 99 mg/L, respectivamente.

La concentración de NO_3^- apenas varió en los primeros tratamientos, observándose un elevado incremento en los humedales y un gran descenso en la balsa de almacenamiento rozando el límite de 50 mg/L establecido por la UE en las aguas subterráneas, (Directiva Europea de NO_3^- (91/676/CEE)).

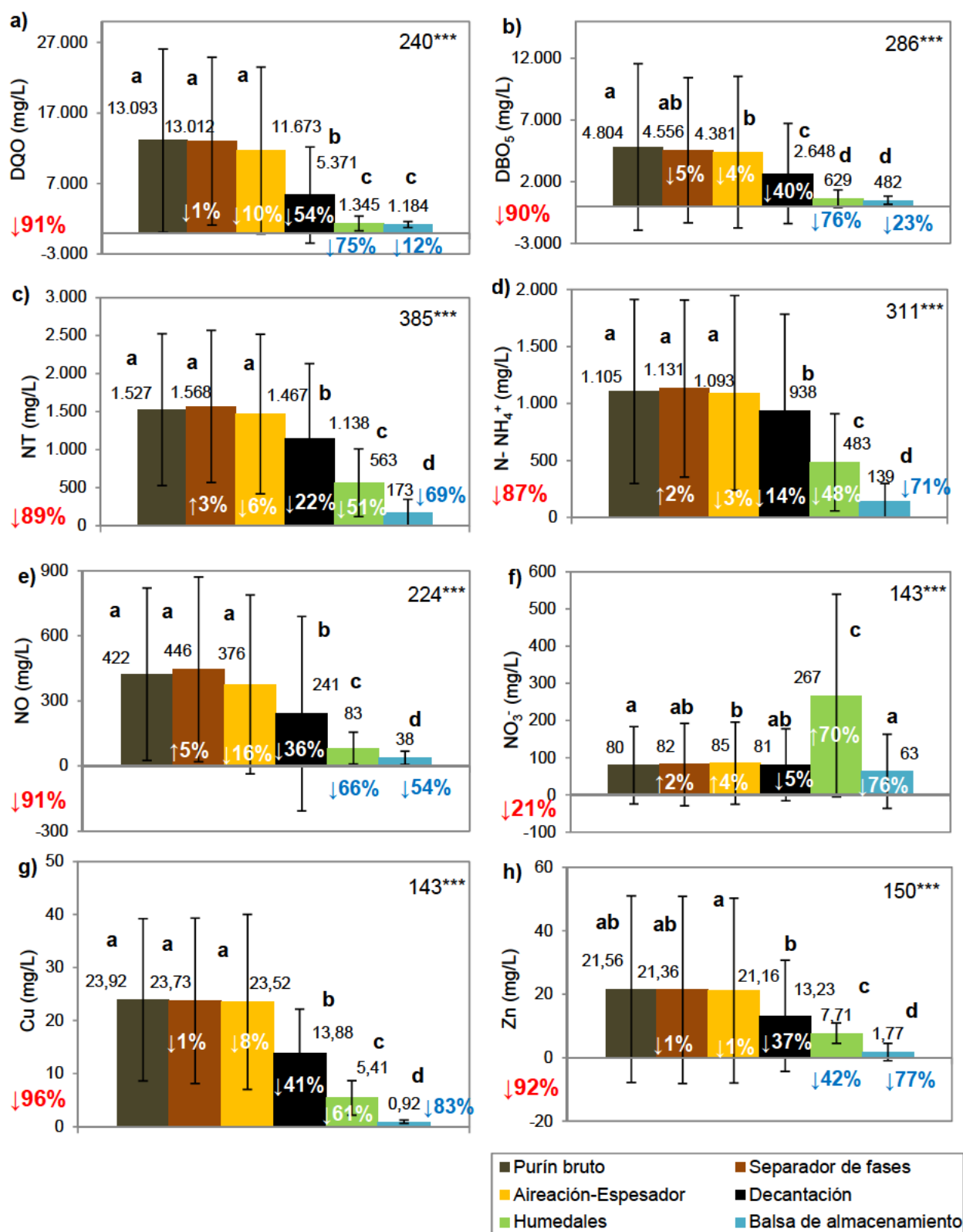


Figura IV.2.2. Valores promedio de DQO, DBO₅, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cu y Zn de las muestras de purín en los diferentes tratamientos. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{****} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en blanco o azul indican la eficiencia de cada tratamiento. Porcentajes en rojo indican la eficiencia del conjunto de tratamientos.

Se observó un incremento de NO_3^- a la salida de los humedales, y esto puede explicarse por el hecho de que la rizosfera es un ambiente favorable para la nitrificación (Huang *et al.*, 2000). Cuando las concentraciones de NO_3^- son muy bajas significa que la nitrificación y desnitrificación tienen lugar simultáneamente (Vymazal, 1999). Bajo condiciones principalmente anóxicas, la eliminación de materia orgánica consume la mayoría del oxígeno disponible, y la nitrificación y desnitrificación tienen lugar principalmente en condiciones anóxicas (Kadlec y Knight, 1996; Vymazal, 1999). La nitrificación específicamente, que es posible incluso en condiciones de bajas concentraciones de oxígeno disuelto (0,3 mg/L) (Kadlec y Knight, 1996), tiene lugar en zonas aeróbicas del humedal (por ejemplo alrededor de las raíces de las plantas), mientras que la desnitrificación tiene lugar simultáneamente en zonas anóxicas del humedal (Vymazal, 1999; Huang *et al.*, 2000).

Por tanto, tal y como hemos observado en esta tesis, la eliminación de NT y NO_3^- del agua residual puede suceder a través de la asimilación por parte de las plantas y asimilación por parte de algas y su posterior sedimentación, tal y como se observó en otros trabajos (Toet *et al.*, 2005).

J. Cu y Zn

El Cu (**Fig. IV.2.2.g**) mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de este metal en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $23,92 \pm 15,3$ mg/L, $23,73 \pm 15,6$ mg/L; $23,52 \pm 16,5$ mg/L; $13,88 \pm 8,3$ mg/L; $5,41 \pm 3,23$ mg/L y $0,92 \pm 0,32$ mg/L, respectivamente.

El Zn (**Fig. IV.2.2.h**) también presentó diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Sus valores en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $21,56 \pm 29$ mg/L; $21,36 \pm 29,49$ mg/L; $21,16 \pm 29,11$ mg/L; $13,23 \pm 17,53$ mg/L; $7,71 \pm 3,24$ mg/L y $1,77 \pm 2,74$ mg/L, respectivamente.

Tanto el Cu como el Zn presentan un comportamiento análogo frente a los diferentes tratamientos. Se observa que en los dos primeros tratamientos no se muestran diferencias significativas respecto al purín de entrada ($P > 0,05$), pero sí para el resto de tratamientos. Los tratamientos de decantación, humedales y balsa de almacenamiento son los que han permitido los mayores descensos en las concentraciones de estos metales.

Las aguas residuales de origen ganadero contienen cantidades significativas de Cu y Zn debido a su abundancia en la alimentación, algo que hoy en día se está controlando. Como se observa en esta tesis en el tratamiento de decantación una gran parte de los metales de entrada fueron principalmente inmovilizados por sedimentación, como también observó [Yeh et al., \(2009\)](#).

Los humedales artificiales son capaces de tratar los metales pesados procedentes de aguas residuales de origen tanto urbano como industrial o de deposición atmosférica ([Obarska-Pempkowiak and Klimkowska, 1999](#); [Liang y Wong, 2003](#)).

El uso de humedales artificiales es un método de bajo coste y tecnológico, a menudo usado para la eliminación de metales pesados procedentes de aguas residuales. En los humedales, los metales se eliminan del agua residual por asimilación de las plantas, precipitación química, intercambio iónico y adsorción sobre las arcillas o compuestos orgánicos o inorgánicos ([Martin y Johnson, 1995](#)).

El uso de diferentes tipos de sustratos para mejorar la eliminación de los metales ha sido estudiado por diversos investigadores. [Karathanasis y Thompson \(1993\)](#) usaron como sustrato en los humedales seis materiales, incluyendo turba con aproximadamente el 90% de materia orgánica. Este incremento de contenido de materia orgánica en el sustrato se consideró por ser la principal explicación de las altas eliminaciones encontradas (acercándose a valores del 100%) logrado por los humedales tratando una simulación de agua residual ácida procedente de la minería ([Karathanasis y Thompson, 1993](#)). Otros investigadores encontraron resultados similares en la unión de la materia orgánica y metales pesados ([Eger, 1994](#); [Mitchell y Karathanasis, 1995](#); [Chu et al., 2000](#)).

Los sedimentos de los humedales generalmente se consideran por ser un sumidero para metales antropológicamente introducidos al medioambiente ([Hart, 1982](#)). Una gran parte de la fracción de estos elementos que entran al sistema es rápidamente fijada sobre el sustrato, donde un número de propiedades físico y químicas determinarán la fortaleza de retención del metal. Una pequeña proporción de los metales se disuelven y se convierten en disponibles para ser asimilados por la planta. La asimilación de la planta directamente reduce la entrada de metales contenidos en las aguas adyacentes ([Chen et al., 2000](#); [Vandecasteele et al., 2005](#)). Las plantas pueden proveer un sumidero si durante la descomposición del metal se une al residuo mediante adsorción pasiva en superficies orgánicas o mediante mecanismos fisiológicos de colonizadores microbiológicos de residuos ([Gadd, 1992, 1993](#); [Ledin, 2000](#)). Sin embargo, los residuos pueden actuar como una fuente de metal cuando la actividad microbiológica moviliza metales ([Gadd, 1993](#)) o cuando se convierten en disponibles en depósitos. Varios estudios sugieren que los metales en los residuos están disponibles en depósitos y por lo tanto pueden formar estuarios y redes de alimentos ([Weis y Weis, 2004](#)).

La asimilación de metales ha sido estudiada en diversas plantas tales como *Phragmites australis* (Larsen y Schierup, 1981; Schierup y Larsen, 1981; Gries y Garbe, 1989; Peverly *et al.*, 1995; Keller *et al.*, 1998; Windham *et al.*, 2003; Soudek *et al.*, 2004). En todos estos estudios se vio que las cantidades más altas de metal se encontraron en las raíces, seguido del tejido de las hojas y finalmente seguido del tallo y rizomas. Una pequeña fracción de metales se libera al medio a través de las hojas durante la estación de crecimiento (Burke *et al.*, 2000). La función de las plantas en el secuestro de metales convirtiéndose en sumideros de largos periodos depende del porcentaje de asimilación de la planta, porcentaje de translocación y retención de cada uno de los tipos de tejidos y el porcentaje y el modo de descomposición de los tejidos (Catallo, 1993; Kadlec y Knight, 1996).

De acuerdo con Stevenson (1994) y Eger (1994) la materia orgánica causa mayor capacidad de intercambio catiónico que cualquier otro componente del suelo. Esta alta capacidad del sustrato puede ser la principal razón de las concentraciones de metales obtenidas en esta tesis.

Las razones del por qué la materia orgánica retiene metales pesados son complicadas. De acuerdo con Eger (1994), que trató aguas drenadas de mina usando humedales con un sustrato rico en materia orgánica (turba), los metales pesados se retuvieron principalmente debido al intercambio entre el largo número de iones hidrógeno sobre la superficie coloidal de turba y los cationes metálicos. Este fenómeno está correlacionado con la capacidad de intercambio catiónico del suelo.

Algunos investigadores (Karathanasis y Thompson, 1993; Eger, 1994; Mitchell y Karathanasis, 1995; Tam y Wong, 1999) observaron una correlación entre la presencia de materia orgánica y la eliminación de metales. El único parámetro externo que debería disminuir la capacidad del sustrato de tal riqueza en materia orgánica en retener metales pesados, sería una solución de agua ácida con un pH más bajo a 5,5 (Stevenson, 1994; Mitchell y Karathanasis, 1995).

K. Iones

En el purín bruto se han obtenido concentraciones elevadas de algunos de los iones, destacando los de K^+ y Cl^- . Casi el 90% del K^+ ingerido por el animal es excretado por la orina (Lobera *et al.*, 1998). Por orden de abundancia se cumple la siguiente secuencia: $K^+ > Cl^- > Na^+ > SO_4^{2-} > Ca^{2+} > Mg^{2+} > Br^-$ (Fig. IV.2.3.). Estas concentraciones justifican los valores elevados de CE y STD.

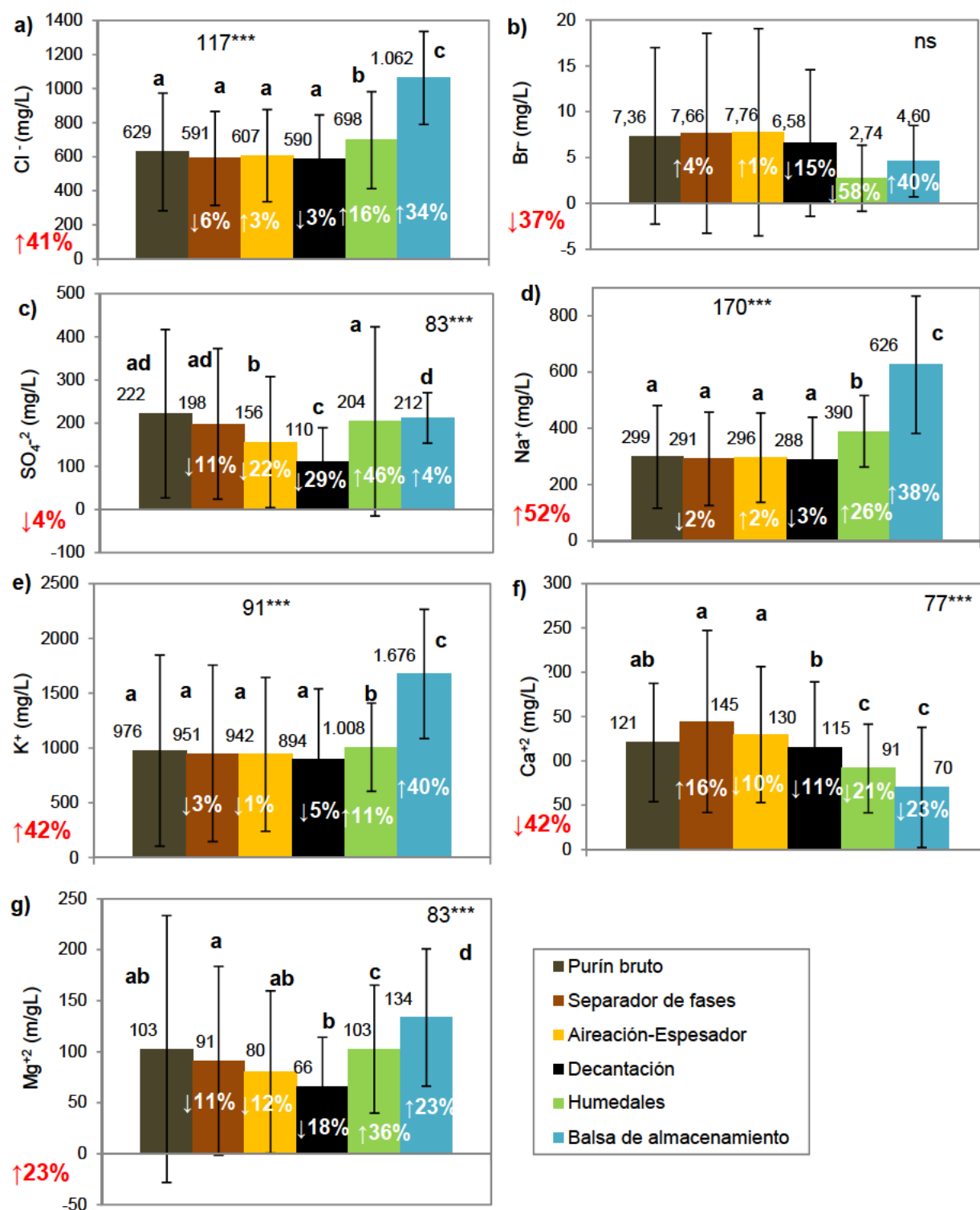


Figura IV.2.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) de las muestras de purín en los diferentes tratamientos. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). Chi^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en blanco indican la eficiencia de cada tratamiento. Los porcentajes en rojo indican la eficiencia del conjunto de tratamientos.

Los iones Cl^- , SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} (**Fig. IV.2.3.**) mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de Cl^- en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron 629 ± 345 mg/L; 591 ± 276 mg/L; 607 ± 271 mg/L; 590 ± 255 mg/L; 698 ± 284 mg/L y 1.062 ± 273 mg/L, respectivamente.

Los valores de Br^- en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $7,36 \pm 9,63$ mg/L; $7,66 \pm 10,89$ mg/L; $7,76 \pm 11,30$ mg/L; $6,58 \pm 7,98$ mg/L; $2,74 \pm 3,61$ mg/L y $4,60 \pm 3,90$ mg/L, respectivamente, sin diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0,05$). El SO_4^{-2} en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento presentó valores medios de 222 ± 195 mg/L; 198 ± 175 mg/L; 156 ± 152 mg/L; 110 ± 79 mg/L; 204 ± 219 mg/L y 212 ± 59 mg/L, respectivamente. Los valores del Na^+ en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron 299 ± 183 mg/L; 291 ± 166 mg/L; 296 ± 159 mg/L; 288 ± 152 mg/L; 390 ± 127 mg/L y 626 ± 244 mg/L, respectivamente. El K^+ mostró unos valores en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento de 976 ± 873 mg/L; 951 ± 806 mg/L; 942 ± 702 mg/L; 894 ± 646 mg/L; 1.008 ± 402 mg/L y 1.676 ± 590 mg/L, respectivamente. Los valores de Ca^{+2} fueron en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento de 121 ± 67 mg/L; 145 ± 103 mg/L; 130 ± 77 mg/L; 115 ± 74 mg/L; 91 ± 50 mg/L y 70 ± 68 mg/L, respectivamente. Por último, los valores de Mg^{+2} en el purín bruto, tras el separador de fases, tras aireación-espesador de fangos, tras la decantación, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron 103 ± 131 mg/L; 91 ± 92 mg/L; 80 ± 80 mg/L; 66 ± 48 mg/L; 103 ± 63 mg/L y 134 ± 67 mg/L, respectivamente. Es de destacar la gran variabilidad de valores de los iones en las muestras analizadas. Esto puede ser debido al distinto contenido en sales del purín bruto de entrada al sistema, que ya condiciona el funcionamiento del resto de tratamientos.

Según los resultados obtenidos todos los iones aumentan tras el conjunto de tratamientos, excepto el Br^- que no ha mostrado diferencias significativas entre ellos, y el Ca^{+2} que ha disminuido. El Ca^{+2} no ha mostrado diferencias significativas entre los valores del purín bruto, tras el separador de fases y tras la aireación-espesador. Por el

contrario, se ha observado una disminución significativa ($P < 0,05$) en su concentración tras la decantación, los humedales y la balsa de almacenamiento final.

La concentración de iones monovalentes como Cl^- , K^+ y Na^+ han presentado un comportamiento análogo frente a los tratamientos. Entre los primeros tratamientos no existen diferencias significativas ($P > 0,05$) en sus concentraciones. Sin embargo, estos iones se incrementan significativamente ($P < 0,05$) tras los humedales y fundamentalmente tras la balsa de almacenamiento.

Los iones divalentes tales como Mg^{+2} y SO_4^{-2} han mostrado el mismo comportamiento frente a los tratamientos. Sus concentraciones disminuyen en los primeros tratamientos, pero se producen aumentos significativos tras los humedales y la balsa.

Los elementos conservadores o elementos salinos no se acumulan generalmente o alteran al pasar a través de los humedales (Kadlec, 1978). No obstante, algunos autores sí lograron obtener importantes eliminaciones en iones (Spangler *et al.*, 1976; Finlayson *et al.*, 1982; Wolverton, 1982), contrario a lo encontrado en esta tesis doctoral.

Al igual que en esta tesis, Finlayson *et al.* (1987) mostraron que el Cl^- aumentó, en este caso, casi el 50%. Estos autores explicaron que este hecho se debía a que la evapotranspiración concentra los sólidos en suspensión y los elementos conservadores (iones) como Cl^- .

La variabilidad de las condiciones redox en la zona de la raíces puede afectar al destino del ión SO_4^{-2} y permitir la formación de sulfuro. El SO_4^{-2} es un constituyente normal de las aguas residuales de origen doméstico, y los compuestos de azufre reducidos son conocidos por ser inhibidores potentes del crecimiento de las plantas y ciertas actividades microbiológicas (Lee, 1999; Armstrong *et al.*, 1996; Chambers *et al.*, 1998; Pedersen *et al.*, 2004; Koch y Erskine, 2001). Los diferentes procesos redox de carbono y nitrógeno se encontraron por actuar simultáneamente en la rizosfera de las halófitas (Liesack *et al.*, 2000; Overmann y van Gemerden, 2000; Wiessner *et al.*, 2005; Winter y Kickuth, 1989). Por lo tanto, la reducción de SO_4^{-2} tiene que ser considerada como un factor que puede controlar la función particularmente en los humedales.

De acuerdo con el potencial interactivo de las especies de sulfuro en los humedales, se ha verificado que: (i) el sulfuro que entra a los humedales puede causar depósitos de sulfuro de azufre orgánico o elemental (Winter y Kickuth, 1989), pero que los balances fueron mayoritariamente incompletos y no existe información sobre una nueva movilización, particularmente bajo condiciones dinámicas redox; (ii) el SO_4^{-2} en los humedales da lugar a cambios de Eh y pH, transformaciones de carbono, y de forma indirecta la movilización de nutrientes (Feng y Hsieh, 1998; Lamers *et al.*, 1998). Todos estos procesos son de importancia para las eliminaciones de carbono, NT y PT pero aún

no están lo suficientemente evaluados; (iii) el azufre puede ser altamente tóxico para los microorganismos y macrofitas y es un competidor por el consumo de oxígeno (Lee, 1999; Armstrong *et al.*, 1996; Chambers *et al.*, 1998; Pedersen *et al.*, 2004; Koch y Erskine, 2001); (iv) los microorganismos potenciales del ciclo del azufre coexisten muy juntos con el resto de todos los microorganismos implicados en procesos de eliminación en tapetes microbiológicos y capas de sedimento, especialmente en condiciones de gradientes a micro-escala (Overmann y van Gernerden, 2000; Liesack *et al.*, 2000; Blaabjerg y Finster, 1998; Wind y Conrad, 1997). La sensibilidad de nitrificación, particularmente en humedales de flujo horizontal subsuperficial, por ejemplo, podría deberse a limitaciones de oxígeno o nutrientes, pero también además, o exclusivamente causado por productos de transformación de azufre, especialmente bajo condiciones de cargas altas de carbono o SO_4^{-2} (Wiessner *et al.*, 2005).

En algunos estudios las concentraciones de Na^+ y K^+ no cambiaron significativamente tras la depuración del efluente en el humedal (Finlayson *et al.*, 1987). En otros se encontró que en el tratamiento de aguas residuales procedentes de un matadero de aves de corral, el Na^+ , el K^+ y la CE se incrementaron al pasar por el humedal artificial (Finlayson y Chick, 1983). En esta tesis el sustrato usado para los humedales fue calcáreo, que es un material conocido por promover la precipitación de fosfatos de calcio (Drizo, *et al.*, 1999), lo que podría explicar parcialmente la disminución de Ca^{+2} .

Finalmente en la balsa de almacenamiento se produce un descenso de sales ya que debido a la fotosíntesis de las microalgas y liberación de oxígeno, se incrementa el pH, siendo básico, lo que puede provocar cambios en los equilibrios de disociación de los iones presentes favoreciendo la precipitación de algunas sales (Mashauri *et al.*, 2000).

L. Parámetros microbiológicos

Las bacterias aerobias mesófilas (**Fig. IV.2.4.a**) mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de este grupo de microorganismos en el purín bruto, tras los humedales (evaluando así el conjunto de tratamientos de separación de fases, aireación-espesado de fangos, decantación y humedales artificiales) y tras la balsa abierta de almacenamiento fueron $6,03 \pm 0,82$ Log (UFC/mL); $50 \pm 1,41$ Log (UFC/mL) y $5,51 \pm 1,18$ Log (UFC/mL), respectivamente. Las bacterias aerobias mesófilas son un fácil indicador de los microorganismos presentes en las aguas residuales, pudiendo ser o no patógenos (Prescot *et al.*, 1999). Es realmente una estimación de la biomasa microbiana presente en una muestra (Mashauri *et al.*, 2000)

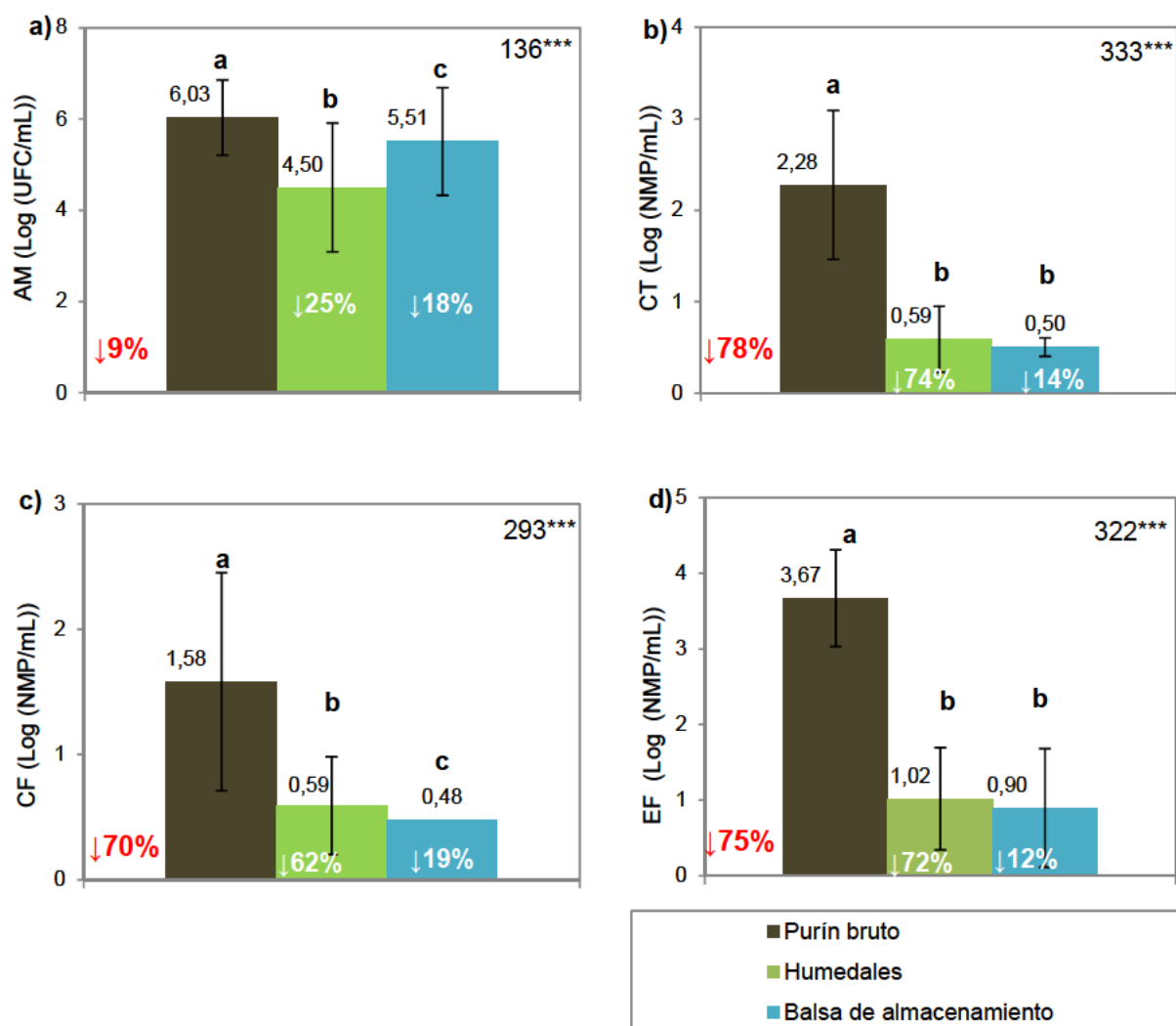


Figura IV.2.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto, tras los humedales y en la balsa de almacenamiento. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en blanco indican la eficiencia de cada tratamiento. Los porcentajes en rojo indican la eficiencia del conjunto de tratamientos.

Tras el paso del purín por los humedales el contenido de bacterias aerobias mesófilas descendió significativamente ($P < 0,05$), mientras que en la balsa de almacenamiento significativamente aumentó coincidiendo con el crecimiento de microalgas, como también se han observado en otros estudios (Oswald *et al.* 1957; de Godos *et al.*, 2009a,b; Mulbry *et al.*, 2008).

Los CT y los CF (Fig. IV.2.4.b,c) mostraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores promedio de los CT en el purín bruto, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $2,28 \pm 0,82$ Log (NMP); $0,59 \pm 0,36$ Log (NMP) y $0,50 \pm 0,10$ Log (NMP), respectivamente.

Los CF presentaron valores en el purín bruto, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento de $1,58 \pm 0,87$ Log (NMP); $0,59 \pm 0,39$ Log (NMP) y $0,48 \pm 0,00$ Log (NMP), respectivamente.

En este estudio, las muestras de purín bruto mostraron valores de CT y CF mucho más bajos de los esperados según la bibliografía, como ya se explicó en el capítulo anterior. Después del tratamiento biológico del purín, el contenido de CT y CF descendió significativamente ($P < 0,05$). Tanto los tratamientos de separación mecánica como los humedales artificiales permiten en su conjunto altas eliminaciones de patógenos como CT y CF, entre otros. Por ejemplo, mediante el uso de humedales [Neralla et al. \(2000\)](#) y [Steer et al. \(2002\)](#) eliminaron el 99% de CF, y [Mashauri et al. \(2000\)](#) eliminaron el 90% de CF.

Los EF (**Fig. IV.2.4.d**) mostraron también diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P < 0,05$). Los valores de este grupo de microorganismos en el purín bruto, tras los humedales artificiales y tras la balsa de almacenamiento fueron $3,67 \pm 0,64$ Log (NMP); $1,02 \pm 0,68$ Log (NMP) y $0,90 \pm 0,78$ Log (NMP), respectivamente.

En la Tabla IV.2.1 se muestran los casos que han resultado positivos y negativos en *Salmonella*, *Shigella* y *E. coli* en las diferentes muestras de purín analizadas.

Tabla IV.2.1. Resultados de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli* obtenidos en el análisis de todas las muestras de purín bruto, tras la salida del efluente de los humedales artificiales y en la balsa de almacenamiento.

Muestras	<i>Salmonella</i>			<i>Shigella</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	Purín bruto	Humedales	Balsa	Purín bruto	Humedales	Balsa	Purín bruto	Humedales	Balsa
Positivo	45	0	0	0	0	0	71	0	0
Negativo	219	192	57	264	192	57	193	192	57
Total	264	192	57	264	192	57	264	192	57
% Positivo	17	0	0	0	0	0	27	0	0

El 17% de las muestras analizadas de purín bruto resultaron positivas en *Samonella*, siendo inferior al porcentaje encontrado en otros estudios ([Ros et al., 2006](#); [Suresh et al., 2009](#); [Wong et al., 2009](#); [Massé et al., 2010](#)), dando negativo a la salida de los humedales y en la balsa de almacenamiento. Ninguna muestra fue positiva a *Shigella*. El 27% de las muestras de purín bruto fueron positivas a *Escherichia coli*, porcentaje inferior al encontrado otros estudios ([Côté et al., 2006](#); [Petkov et al., 2006](#); [Ros et al., 2006](#); [Suresh et al., 2009](#); [Wong et al., 2009](#); [Massé et al., 2010](#)) siendo todas las muestras de salida de los humedales y en la balsa de almacenamiento negativas a este patógeno, tal y como observaron la mayoría de autores ([Neralla et al., 2000](#); [Mashauri et al., 2000](#); [Steer et al., 2002](#); [Cifre, 2008](#)).

**IV.3. EFECTO DE LOS
FACTORES DE DISEÑO EN
LA EFICIENCIA
DE LA DEPURACIÓN DE LOS
HUMEDALES ARTIFICIALES:**

- SUSTRATO**
- DENSIDAD DE PLANTA.**

IV.3.1. Efecto del sustrato (una o dos capas de grava) en la eficiencia de la depuración de los humedales artificiales.

En esta experiencia el total del volumen procesado fue 591.828 L de purín decantado de los cuales 328.248 L se procesaron a través de los humedales de una capa de grava y 263.610 L a través de los humedales de dos capas de grava. El total del volumen registrado a la salida de los humedales de una y dos capas de grava fue 255.024 L y 209.261 L, respectivamente, suponiendo unas pérdidas de volumen debido a la evapotranspiración del 22% y 21%, respectivamente. Por tanto no se observan diferencias importantes entre ambos tipos de humedales teniendo en cuenta este parámetro.

Según los resultados obtenidos (**Fig. IV.3.1-4**) todos los parámetros analizados han mostrado diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las medias del purín de entrada, y la de los efluentes de salida de los dos tipos de humedal, a excepción de la T, CE y STD ($P > 0,05$).

Por otro lado, comparando las medias de los dos tipos de humedal se ha encontrado que no existen diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los humedales de una capa y dos capas de grava para los parámetros de T, Eh, CE, STS, SS, STD, DQO, NT, N-NH_4^+ , NO, Br^- , CT, CF y EF.

Para ambos tipos de humedales los rangos de porcentajes de variación (relación entre el valor del parámetro en el efluente y en el influente) de estos parámetros han sido ascensos del 1-0% en T, y 57-61% en Eh, y descensos del 5-7% en CE, 85-87% en STS, 100% en SS, 0-1% en STD, 69-72% en DQO, 33-45% en NT, 27-42% en N-NH_4^+ , 63-65% en NO, 67-71% en Br^- , 34% en AM, 80-81% en CT, 74-78% en CF y 78% en EF.

Las muestras de efluente al final del proceso de depuración en los dos tipos de humedal artificial en función del sustrato no mostraron diferencias significativas en *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* resultando 100% negativas.

Por el contrario, sí que han mostrado diferencias significativas ($P < 0,05$) los parámetros de pH, DBO_5 , PT, Cu, Zn, NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} .

Se observa (**Fig. IV.3.1.c**) que en los humedales de una capa se produjo una significativa y mayor variación de pH (13%) respecto a los humedales de dos capas (10%); la media y desviación del pH del influente, que fue $7,73 \pm 0,48$, disminuyó a la salida de los humedales de una capa hasta $6,73 \pm 0,45$ y a la salida de los humedales de dos capas hasta $6,98 \pm 0,64$.

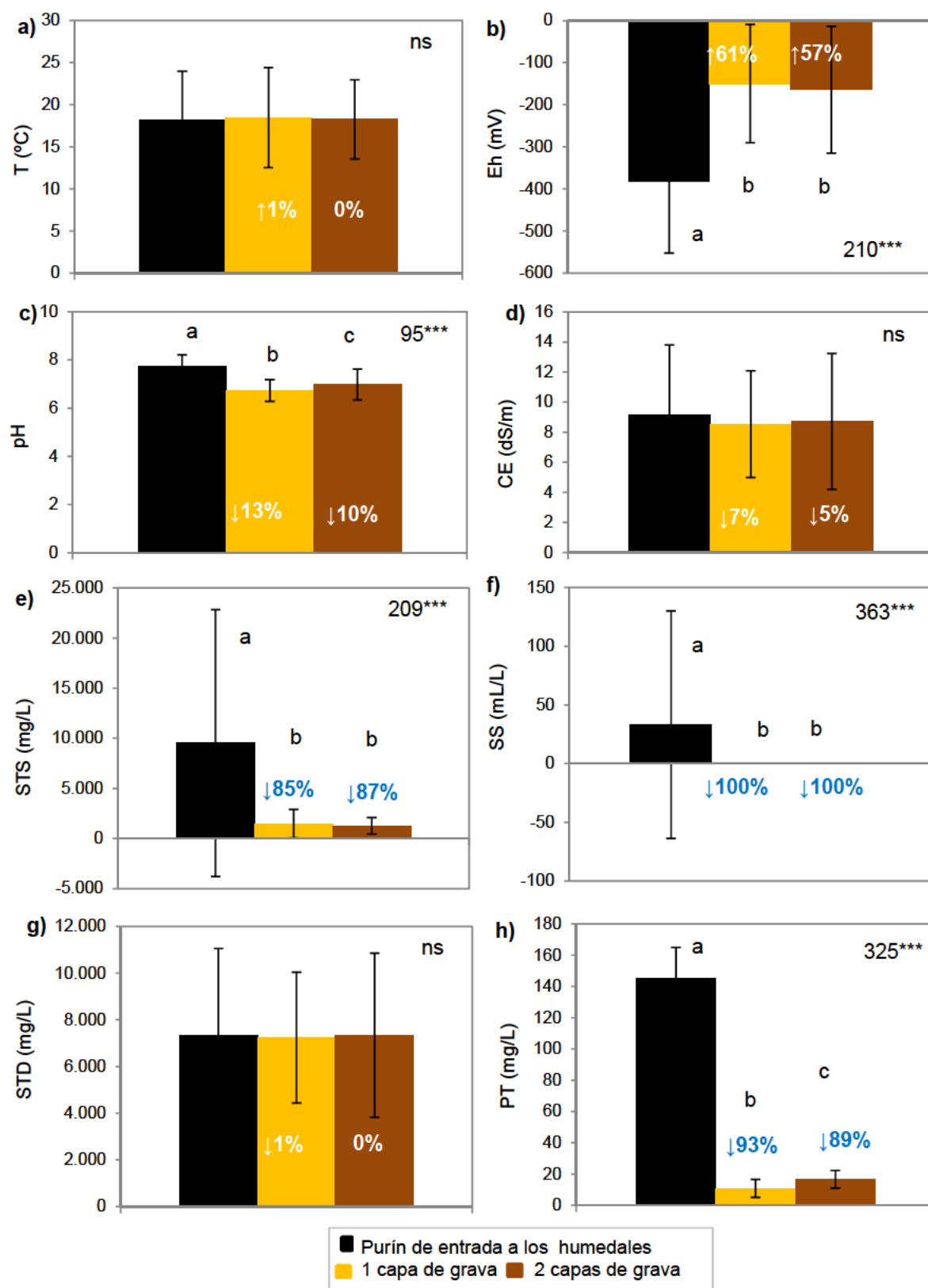


Figura IV.3.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purin pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0.001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purin pre-tratado de entrada a los humedales.

Este hecho puede explicar el mayor aumento significativo de las concentraciones, en los humedales de una capa con respecto a los de dos capas, de los parámetros como NO_3^- (**Fig. IV.3.2.f**), Cl^- (**Fig. IV.3.3.a**), SO_4^{2-} (**Fig. IV.3.3.c**), Na^+ (**Fig. IV.3.3.d**), K^+ (**Fig. IV.3.3.e**) y Mg^{+2} (**Fig. IV.3.3.g**).

El uso de humedades con 80 cm de capa de grava calcárea (23-40 mm de diámetro) hizo posible una mejor eliminación de DBO_5 (**Fig. IV.3.2.b**), PT (**Fig. IV.3.1.h**), Cu (**Fig. IV.3.2.g**) y Zn (**Fig. IV.3.2.h**) con una eficiencia del 75%, 93%, 89% y 91% respectivamente frente al 66%, 89%, 83% y 79% respectivamente de eficiencia en el humedal de dos capas de grava calcárea.

Por el contrario, el uso de humedales de dos capas de 40 cm cada una, de grava calcárea de diferentes diámetros de 23-40 mm y 4-8 mm, hizo posible una mejor eliminación de Ca^{+2} (**Fig. IV.3.3.f**) con una eficiencia del 46% frente al 14% de la eficiencia en el humedal de una capa.

Por tanto, la tipología de humedal con mayor diámetro de poros fue quien tuvo la mayor eficiencia en la eliminación de DBO_5 , PT, Cu y Zn. Sin embargo, la tipología de humedal de menor diámetro de poros permitió mayor eficiencia de eliminación para Ca^{+2} .

Diferentes trabajos han estudiado el efecto de la porosidad del sustrato, así como de su tamaño y tipo (He y Mankin, 2002). De acuerdo con algunos estudios, normalmente las gravas de bajo diámetro proporcionan un mayor crecimiento de macrófitos y por tanto se incrementa la cantidad de contaminantes, como NH_4^+ , que se inmovilizan en la biomasa (García *et al.*, 2005).

Además, en las zonas con carácter anaeróbico, los procesos reductores bióticos y abióticos pueden competir directamente por el consumo de electrones en los procesos de degradación de compuestos orgánicos. La reducción de receptores alternativos de electrones en los humedades (NO_3^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- y posiblemente también FeOOH y MnO_2) depende principalmente del tipo de sustrato, y el donante de electrones en el agua influente, además de la presencia o ausencia de otras especies receptoras de electrones (Reddy y D' Angelo, 1997).

En sistemas tan complejos como en los humedales artificiales existen diferentes vías de eliminación de compuestos. El transporte y atenuación de contaminantes en las células de los humedales dependen predominantemente del sustrato, impedancia física y capa suprayacente; por ejemplo, es normal que exista atenuación del NH_4^+ durante la migración en la subsuperficie (Erskine, 2000). Los procesos claves son la adsorción (capacidad de cambio) y la degradación biológica (Buss *et al.*, 2004).

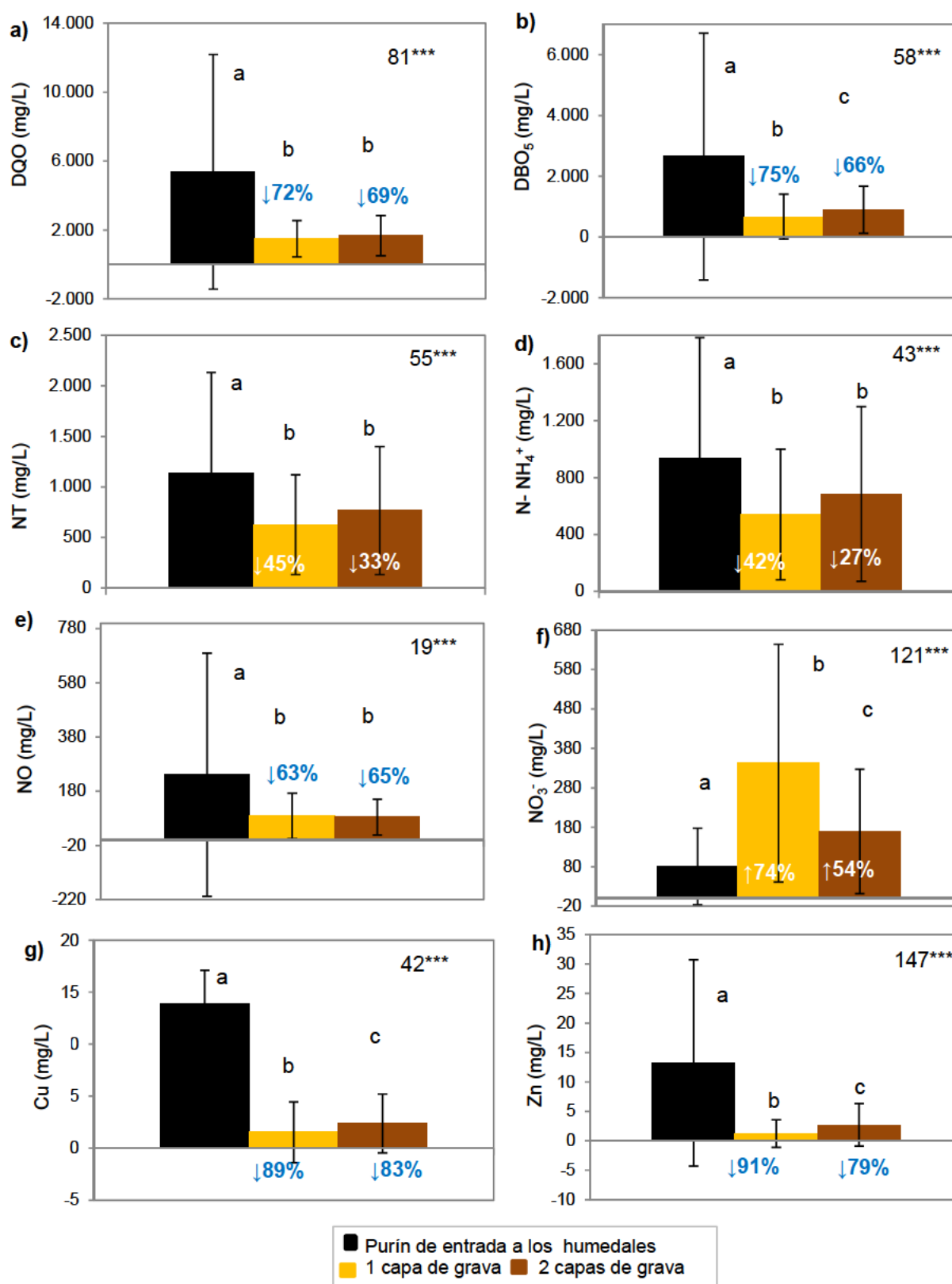


Figura IV.3.2. Valores promedio de DQO, DBO₅, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cu y Zn de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes (P>0,05). Chi²*** indica diferencias significativas a P<0,001; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

La tasa de adsorción de P está controlada por el Eh, pH y la superficie de adsorción del sustrato (Vymazal *et al.*, 1998b). Materiales granulares finos presentan mayor área específica y por tanto mayor potencial para adsorber P (Zhu *et al.*, 1997). No obstante, tales materiales presentan con frecuencia baja conductividad hidráulica, lo que conduce a la aparición de encharcamientos superficiales y a un contacto insuficiente entre el agua residual y el sustrato dentro del humedal (Kadlec y Knight, 1996; Drizo *et al.*, 1999). Por tanto, el material debe ser lo suficientemente permeable para prevenir la formación de flujos preferenciales o la canalización superficial (Kadlec y Knight, 1996). Este hecho se cumple en el sustrato diseñado para este estudio, de ahí la mayor eficiencia en la adsorción de P con el uso de una sola capa de grava de mediano diámetro.

El valor de potencial en esta experiencia indica condiciones anaeróbicas como consecuencia de su alta carga orgánica (**Fig. IV.3.1.b**). El medio se ha hecho menos reductor como consecuencia de la degradación de compuestos orgánicos, adsorción y absorción biológica de nutrientes, y oxigenación.

Los valores de CE en humedades artificiales dependen de varios factores como el sustrato o composición de la grava, la evapotranspiración, tratamiento, etc. Normalmente, en la plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales, la CE desciende ligeramente; sin embargo, en los humedades artificiales la evapotranspiración alta y la interacción entre el sustrato y el agua hacen que se mantengan altos los valores de salinidad (Fountoulakis *et al.*, 2009).

Los humedales subsuperficiales de flujo horizontal son bastante eficientes en el tratamiento de los STS y los SS, siendo los principales mecanismos de eliminación la sedimentación, adsorción y degradación microbiana, aunque no son tan efectivos para la eliminación de los sólidos disueltos (Green, 1997a; Leonard, 2000).

Es sabido que a valores de pH mayores de 6 se produce una combinación de adsorción física del fósforo a óxidos de hierro y aluminio, y precipitación como fosfatos de Ca^{+2} . A valores más bajos de pH es importante la precipitación como fosfatos de hierro y aluminio (strengita, variscita) (Gerritse, 1993).

La capacidad del sistema integral para eliminar PT depende por tanto de la presencia de estos minerales en el sustrato. Esta hipótesis está reforzada por la observación de que la eliminación de PT es particularmente eficiente en humedades artificiales que contienen arena ferruginosa (Netter, 1992). Sin embargo, la eficiencia de eliminación de PT es alta inicialmente y posteriormente decrece cuando la capacidad de adsorción de la arena está prácticamente saturada (Ciupa, 1996).

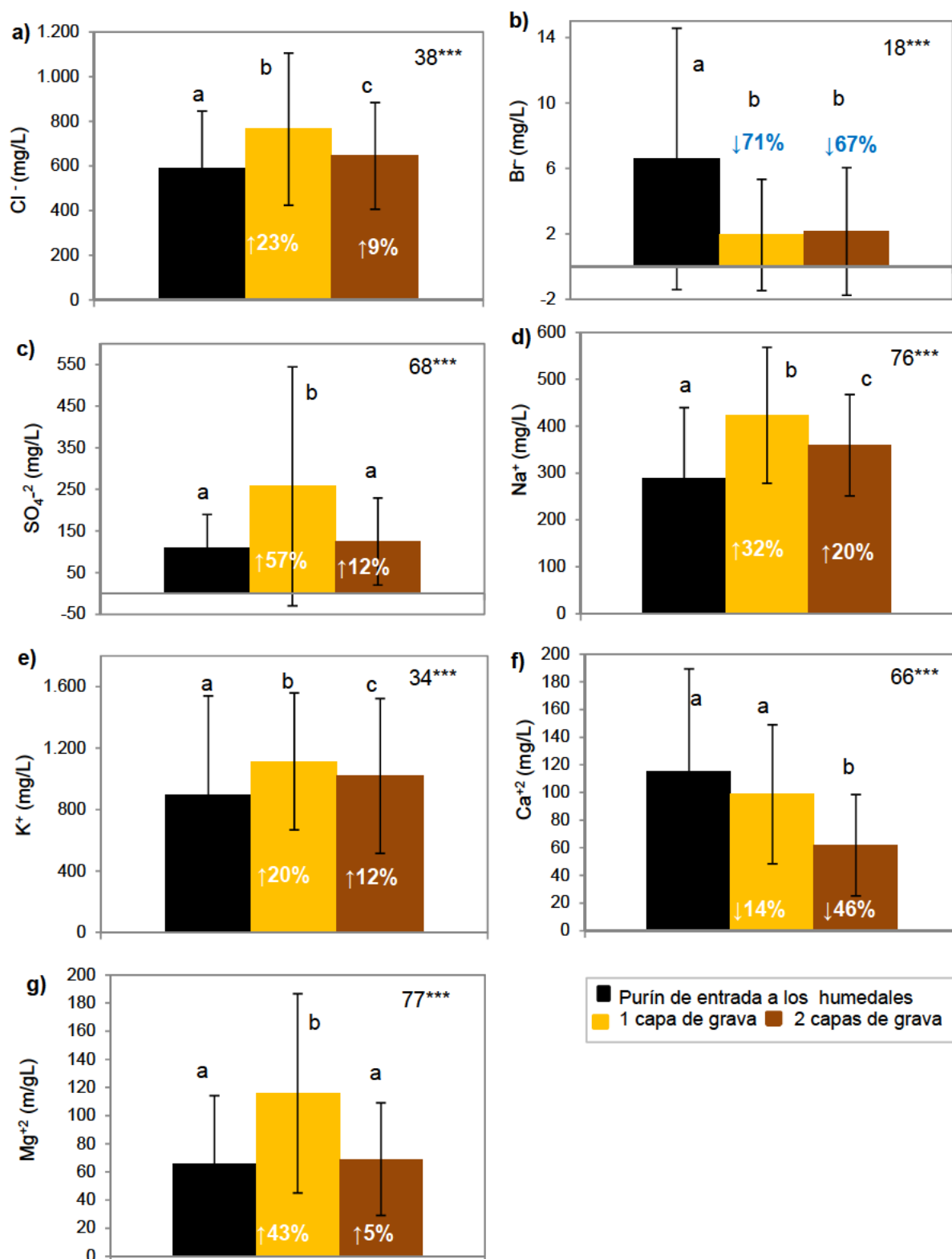


Figura IV.3.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). Chi^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Por tanto, es de gran importancia seleccionar medios de arena con alta capacidad de adsorción de PT para lograr una eliminación continuada y sostenida a largo plazo en el humedal artificial.

La eliminación de PT en ambientes con alto contenido en Ca^{+2} , como es nuestro caso, se atribuye bien a la adsorción (Nur Onar *et al.*, 1996) o bien a la precipitación como fosfato cálcico (Agbenin, 1996).

El nitrógeno de las aguas residuales (incluyendo el purín de cerdo) se encuentra en formas químicas diferentes. La mayor parte del NT se encuentra en forma amoniacal. Knight *et al.* (2000) diseñaron un humedal donde el N-NH_4^+ descendió en el efluente de 122,2 a 63,7 mg/L (eficiencia del 48%).

En ambientes acuáticos como en el humedal artificial, el NH_4^+ se puede eliminar mediante varias vías, siendo las principales la volatilización, la nitrificación, y la inmovilización microbiana, todo en función de las características del sustrato, el estado de la vegetación y la disponibilidad de oxígeno (Strous *et al.*, 1999; Jetten, 2001).

Las plantas favorecen la oxigenación de la rizosfera, favoreciendo la nitrificación del amonio (Huang *et al.*, 2000). En otros estudios se ha observado que el NO_3^- permanece muy bajo a través del sistema del humedal artificial, indicando una nitrificación y desnitrificación que tienen lugar de una forma simultánea (Vymazal, 1999).

El purín de cerdo ha contenido cantidades significativas de Cu y Zn debido a la abundancia de estos oligoelementos en la alimentación, hoy en día ya no tanto debido a su control en la fabricación de los piensos. La mayor parte de los metales que entran al humedal se inmovilizan mediante sedimentación en la base de la construcción (Yeh *et al.*, 2009). Sin embargo, hay otros mecanismos que reducen la concentración de estos metales en el efluente como la absorción por parte de la vegetación, precipitación química, intercambio iónico y adsorción a las arcillas y compuestos orgánicos e inorgánicos (Martin y Johnson, 1995).

La disponibilidad de estos metales para las plantas acuáticas es complejo y depende de factores asociados con el tipo de metal y el sustrato concreto (Mays y Edwards, 2001). El uso de diferentes sustratos para eliminar metales pesados de las aguas residuales ha sido ampliamente investigado en las últimas décadas Karathanasis y Thompson (1993) usaron seis materiales, incluyendo el musgo de turba con aproximadamente un 90% de materia orgánica, como sustrato. El incremento en el contenido de materia orgánica en el sustrato fue el principal argumento para explicar la alta eficiencia en la eliminación del PT (prácticamente de un 100%).

La efectividad de la materia orgánica para retener metales se ha investigado en otros trabajos (Mitchell y Karathanasis, 1995; Chu *et al.*, 2000).

La caliza que constituye las gravas utilizadas como sustrato y el pH ligeramente alcalino promueven la precipitación de Ca^{2+} como fosfato (Drizo *et al.*, 1999).

Los humedales artificiales mostraron un potencial considerable de eliminación de bacterias fecales (Neralla *et al.*, 2000; Steer *et al.*, 2002; Mashauri *et al.*, 2000; Karathanasis *et al.*, 2003). En un estudio (Karathanasis *et al.*, 2003) los rangos de porcentajes de eliminación fueron del 93-98% para los CF y del 63-78% para los EF.

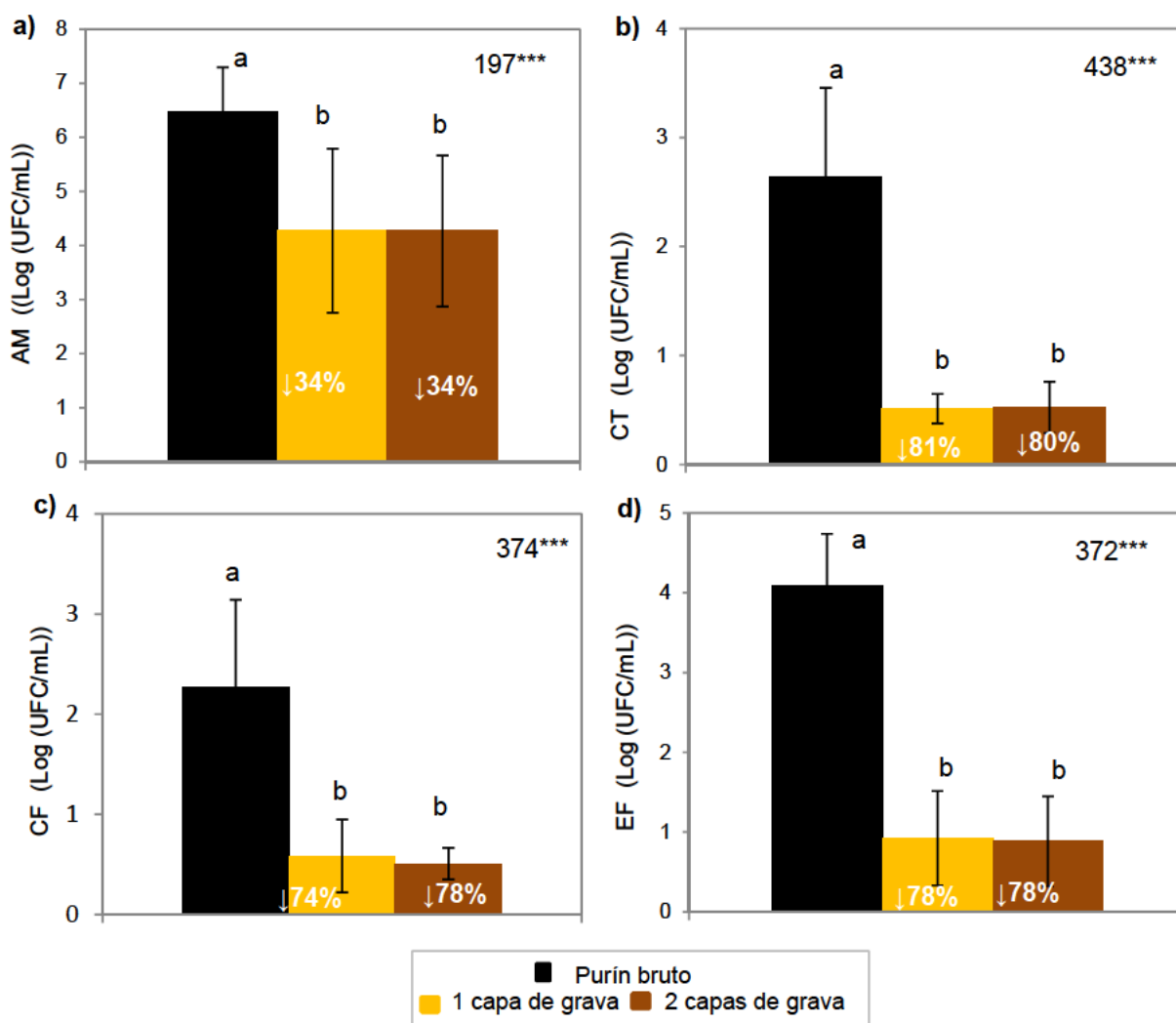


Figura IV.3.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto y de las muestras a la salida de los humedales con uno o dos capas de grava. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Chi^{2***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en valor absoluto indican aumento o disminución respecto al purín bruto.

Karathanasis *et al.* (2003) encontraron una relación positiva y significativa entre el tamaño del sistema y el porcentaje de eliminación en los sistemas policultivados; además, se encontró que a pesar de que los patrones de porcentaje de carga de EF fueron diferentes con respecto a los CF, los porcentajes de eliminación fueron similares entre los sistemas.

IV.3.2. Efecto de la densidad de *Phragmites australis* en la eficiencia de la depuración de los humedales artificiales.

En esta experiencia del total del volumen procesado 198.751 L se procesaron a través de los humedales sin planta, 200.446 L a través de los humedales de 5 plantas/m² y 192.661 L a través de los humedales de 10 plantas/m². El total del volumen registrado a la salida de los humedales sin planta, de 5 plantas/m² y de 10 plantas/m² fue 174.127 L, 142.965 L y 147.193 L respectivamente, suponiendo unas pérdidas de volumen del 12%, 29% y 24% respectivamente por lo que se observan mayores pérdidas de volumen por evapotranspiración en los humedales con planta.

Según los resultados obtenidos (**Fig. IV.3.5-8**) todos los parámetros analizados han mostrado diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las medias del purín de entrada, y la de los efluentes de salida de los tres tipos de humedal, a excepción de la T ($P > 0,05$).

Por otro lado, comparando las medias de los tres tipos de humedal se ha encontrado que no existen diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los humedales sin planta, y de densidades de 5 plantas/m² y 10 plantas/m² para los parámetros de SS, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Mg⁺² y AM. Tampoco se mostraron diferencias significativas en *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* resultando 100% negativas.

Para los tipos de humedales estudiados según la densidad, los rangos de porcentajes de variación de los parámetros sin diferencias significativas han sido ascensos del 3% y descensos del 2% en T, y descensos del 100% en SS, 33-45% en NT, 27-43% en N-NH₄⁺, 60-68% en NO, y 27-43% en AM. Se han detectado ascensos de entre 63-73% en NO₃⁻, y de 26-42% en Mg⁺². Según vemos no se observan diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tres tipos de humedal en función de la densidad de planta en los valores de NT, N-NH₄⁺, y NO, hecho también observado previamente por otros autores ([Drizo et al., 1997](#); [Gray et al., 2000](#)).

En la mayor parte de la bibliografía consultada, los niveles de NO₃⁻ suelen descender tras el paso del agua residual por el humedal artificial. De hecho, se ha observado con frecuencia que los humedales con vegetación presentan mayor eficiencia en la eliminación de NO₃⁻ que aquellos sin vegetación ([Drizo et al., 1997](#); [Lin et al., 2002](#)). No obstante, en este estudio los niveles de NO₃⁻ se han incrementado, indicando un proceso intenso de nitrificación. De hecho, en este sistema, la nitrificación es más intensa que la desnitrificación.

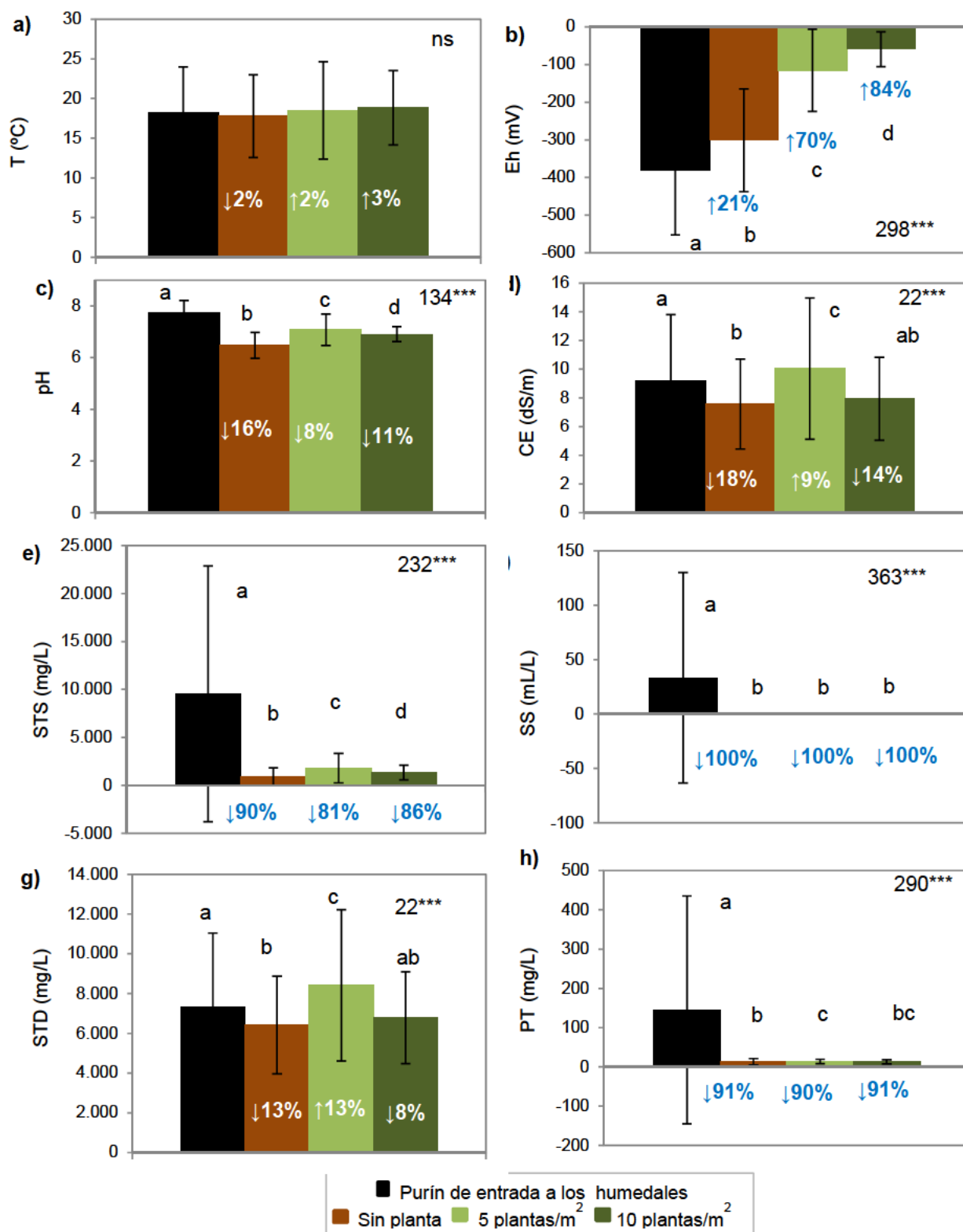


Figura IV.3.5. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Este hecho se puede explicar por la oxigenación del humedal tanto por transferencia física del oxígeno atmosférico al agua, que ha favorecido la nitrificación en el humedal sin vegetación, y a la oxigenación del agua por parte de las raíces, que hacen que la nitrificación sea aún más intensa en la rizosfera (Huang *et al.*, 2000).

Por el contrario, sí que se observan diferencias significativas (diferente letra, $P < 0,05$, **Fig. IV.3.5-8**) en el uso de los tipos de humedales para el resto de parámetros analizados: Eh, pH, CE, STS, STD, DBO₅, DQO, PT, Cu, Zn, Cl⁻, Br⁻, SO₄⁻², Na⁺, K⁺, Ca⁺², CT, CF y EF.

El Eh ha mostrado una mayor y significativa variación (84%) haciéndose un valor más positivo en los humedales de mayor densidad de plantación (**Fig. IV.3.5.b**). Este comportamiento era de esperar debido a que se ha producido una mayor oxigenación por parte de las raíces de las plantas. El oxígeno se puede transferir a través de dos vías principales: (1) transferencia física desde la atmósfera hasta la columna de agua en el humedal; y (2) a través de los tejidos de las plantas mediante la liberación de oxígeno en la rizosfera (Tanner *et al.*, 2002).

En cuanto al valor de pH ha disminuido en todos los tipos de humedales (**Fig. IV.3.5.b**) mostrando una mayor y significativa variación (16%) en los humedales sin plantación. Esto es opuesto a lo observado por otros autores (Collins *et al.*, 2004; Lee y Scholz, 2007; Díaz *et al.*, 2010). En otros estudios sí coinciden con lo que hemos obtenido ya que normalmente, las plantas contribuyen al descenso del pH mediante el proceso de respiración y descomposición de compuestos orgánicos (Collins *et al.*, 2004). En este caso, el descenso del pH puede deberse a la conversión de NH₄⁺ a NO₂⁻ que libera H⁺ al medio, y por tanto, provocan un ligero descenso en el pH, ya que la mayor parte de estos iones H⁺ son neutralizados por los bicarbonatos del agua.

En esta tesis los humedales sin planta y los de mayor densidad de plantación son los que han permitido un significativo y mayor descenso de CE (14-18%) y STD (8-13%). Los valores medios de estos parámetros no han mostrado diferencias significativas (**Fig. IV.3.5.d,g**) entre los humedales sin planta y los de mayor densidad pero sí con los de densidad de 5 plantas/m². *Phragmites australis* es una especie que está aclimatada a las condiciones salinas mediante la adaptación fisiológica de supresión del transporte de sales desde las raíces hasta la parte aérea, o de secuestro o exclusión de las sales (Flowers *et al.*, 1977; Burdick *et al.*, 2001). Normalmente, en las plantas convencionales de tratamiento de aguas residuales la CE desciende. Sin embargo, en los humedales artificiales, este descenso puede no manifestarse debido a la alta evapotranspiración y a las intensas interacciones entre el sustrato y el agua (Fountoulakis *et al.*, 2009).

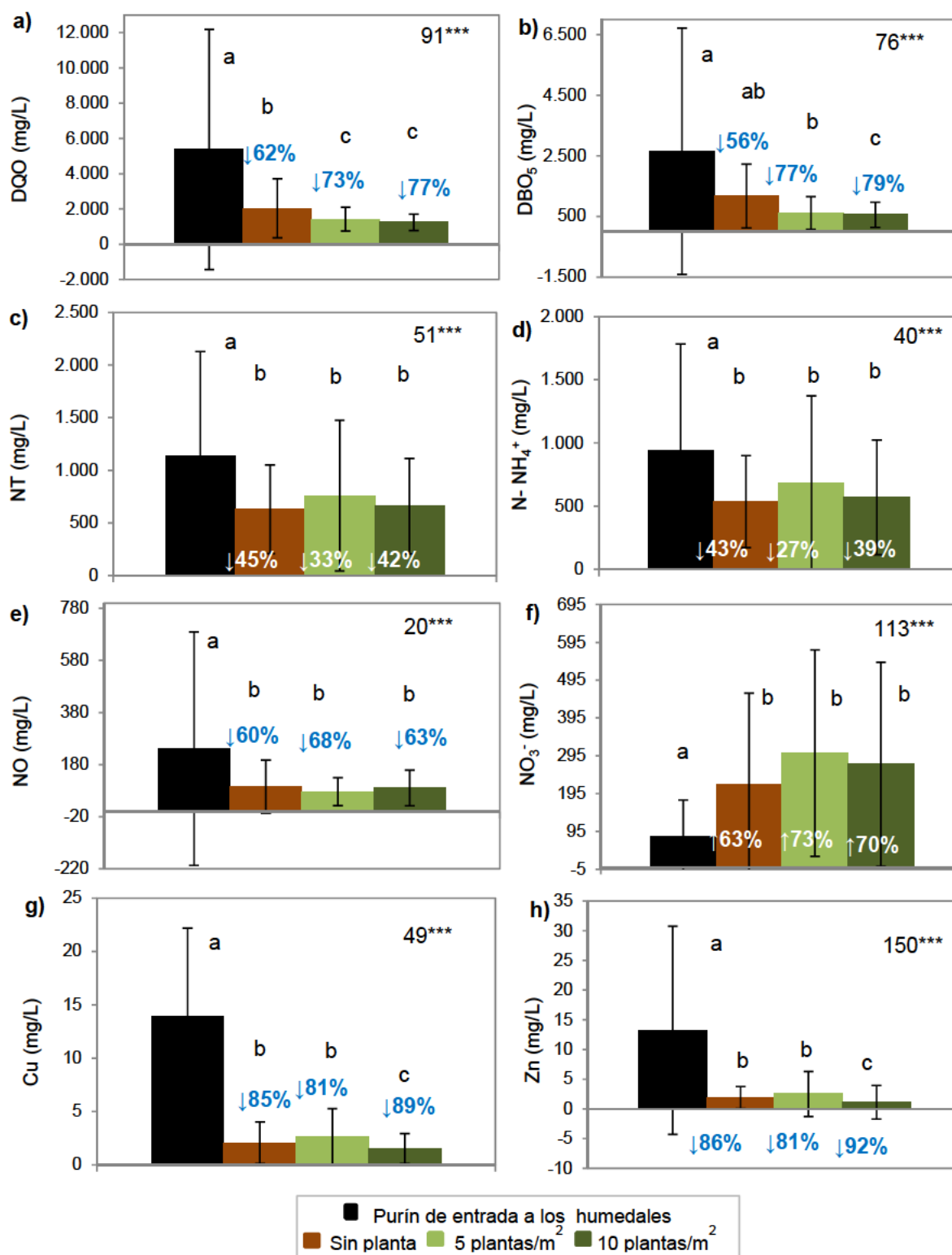


Figura IV.3.6. Valores promedio de DQO, DBO₅, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cu y Zn de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Finlayson *et al.* (1997) tampoco observaron modificaciones en los valores de CE en humedales que contaban con una densidad de plantas en su superficie de 5 plantas/m² con respecto a los valores de entrada, debido fundamentalmente a altos tiempos de retención hidráulica que favorecen la concentración de sales por evapotranspiración.

Por otro lado, los humedales sin planta son los que han permitido una significativa y mayor eliminación de STS (90% (**Fig. IV.3.5.e**)), Br⁻ (89% (**Fig. IV.3.7.b**)), Ca⁺² (50% (**Fig. IV.3.7.f**)) y CT (82% (**Fig. IV.3.8.b**)).

Los resultados obtenidos de algunos estudios parecen indicar que para la eliminación de sólidos en el agua, sean en suspensión, sedimentables o disueltos, no ejerce un efecto importante la presencia o ausencia de planta en el humedal, (Thomas *et al.*, 1995; Tanner *et al.* 1995). Por otro lado, Karathanasis *et al.* (2003) y Lee y Scholz (2007) sí encontraron diferencias en la eliminación de sólidos en humedales con presencia de macrófitos, concluyendo que la mayor eficiencia en los humedales con macrófitos se debía a la mayor actividad biológica y a la mayor capacidad de adsorción en el sistema rizosférico. El hecho de que la eliminación de STS fue significativamente mejor en humedales sin planta de flujo subsuperficial podría estar relacionado con el crecimiento de algas en los humedales con planta de flujo subsuperficial, de acuerdo con otros estudios (Hijosa-Valsero *et al.*, 2010).

La caliza que constituye las gravas utilizadas como sustrato y el pH ligeramente alcalino promueven la precipitación de Ca²⁺ como fosfato, provocando descenso en este catión en el purín tratado en el humedal no vegetado (Drizo *et al.*, 1999). Sin embargo, la presencia de plantas ha imposibilitado este descenso, posiblemente por incrementos en la actividad biológica.

Tanto en los humedales sin planta como los de menor densidad se ha obtenido estadísticamente el más significativo y mayor porcentaje de eliminación de CF (79%), aunque los humedales de mayor densidad también muestran una eliminación importante (69%). En cuanto a los EF han presentado una remoción mayor en los humedales de densidad menor (81%) siendo bastante aceptables para el resto de humedales (76%).

Los humedales de mayor densidad de plantación son los que han permitido una significativa y mayor eliminación de DBO₅ (79% (**Fig. IV.3.6.b**)), DQO (77% (**Fig. IV.3.6.a**)), PT (91% (**Fig. IV.3.5.h**)) como previamente observaron otros autores (Drizo *et al.*, 1997), Cu (89% (**Fig. IV.3.6.g**)) y Zn (92% (**Fig. IV.3.5.h**)).

Aunque la fracción soluble de los metales suele ser baja en las aguas residuales, esta fracción se elimina en los humedales artificiales por absorción por parte de la planta (Keller *et al.*, 1998; Windham *et al.*, 2003; Soudek *et al.*, 2004; Vandecasteele *et al.*, 2005), de ahí la mayor eficiencia en la reducción de Cu y Zn en los humedales con

presencia de vegetación. Sin embargo, los metales también se eliminan de las aguas por precipitación química, intercambio catiónico y adsorción a arcillas y otros compuestos orgánicos e inorgánicos (Martin y Johnson, 1995).

Los resultados de esta tesis se apoyan en los obtenidos por otros autores con reducciones en torno al 70-80% en la DQO y DBO₅ con el uso de humedales plantados con macrófitos (Brix, 1994; Verhoeven y Meuleman, 1999; Gray *et al.*, 2000; Vymazal, 2005; Tsihrintzis *et al.*, 2007; Babatunde *et al.*, 2008).

Los macrófitos son normalmente el principal componente biológico de los humedales. No solo toman nutrientes de las aguas residuales directamente, sino que actúan como catalizadores en las reacciones de depuración, incrementando la diversidad de la rizosfera y promoviendo una gran variedad de reacciones químicas y bioquímicas (Jenssen *et al.*, 1993).

Según se ha comentado en capítulos anteriores, la mayor parte de las concentraciones de los iones estudiados se liberan al medio, ya que son muy solubles provocando un aumento de su concentración tras su paso en el humedal; pero además de esto se observa que en los humedales de mayor densidad de plantación es donde menos porcentaje de aumento o cantidad de iones quedan disueltos mostrando diferencias significativas con respecto a los humedales de menor densidad y sin planta; es el caso de los iones Cl⁻ (6% (**Fig. IV.3.7.a**)), SO₄⁻² (15% (**Fig. IV.3.7.c**)), Na⁺ (20% (**Fig. IV.3.7.d**)) y K⁺ (9% (**Fig. IV.3.7.e**)). Por tanto, los humedales con macrófitos presentaron niveles significativamente más bajos de estos iones ($P < 0,05$) que el humedal sin presencia de plantas.

La plantación de *Phragmites australis* ha resultado muy positiva en la reducción de la carga orgánica del influente, fundamentalmente por la estimulación de las reacciones bioquímicas en su rizosfera. Su adaptación a las condiciones climáticas locales y su gran productividad, alta absorción de nutrientes, rápida producción de rizomas y colonización resultan favorables para este objetivo.

Un problema que aparece normalmente a la hora de seleccionar la mejor especie a utilizar en el humedal es que sea capaz de crecer en un ambiente con alta carga nutricional, alta salinidad y con altas concentraciones de NH₄⁺, anión implicado en la muerte de numerosas especies vegetales cuando se encuentra en exceso.

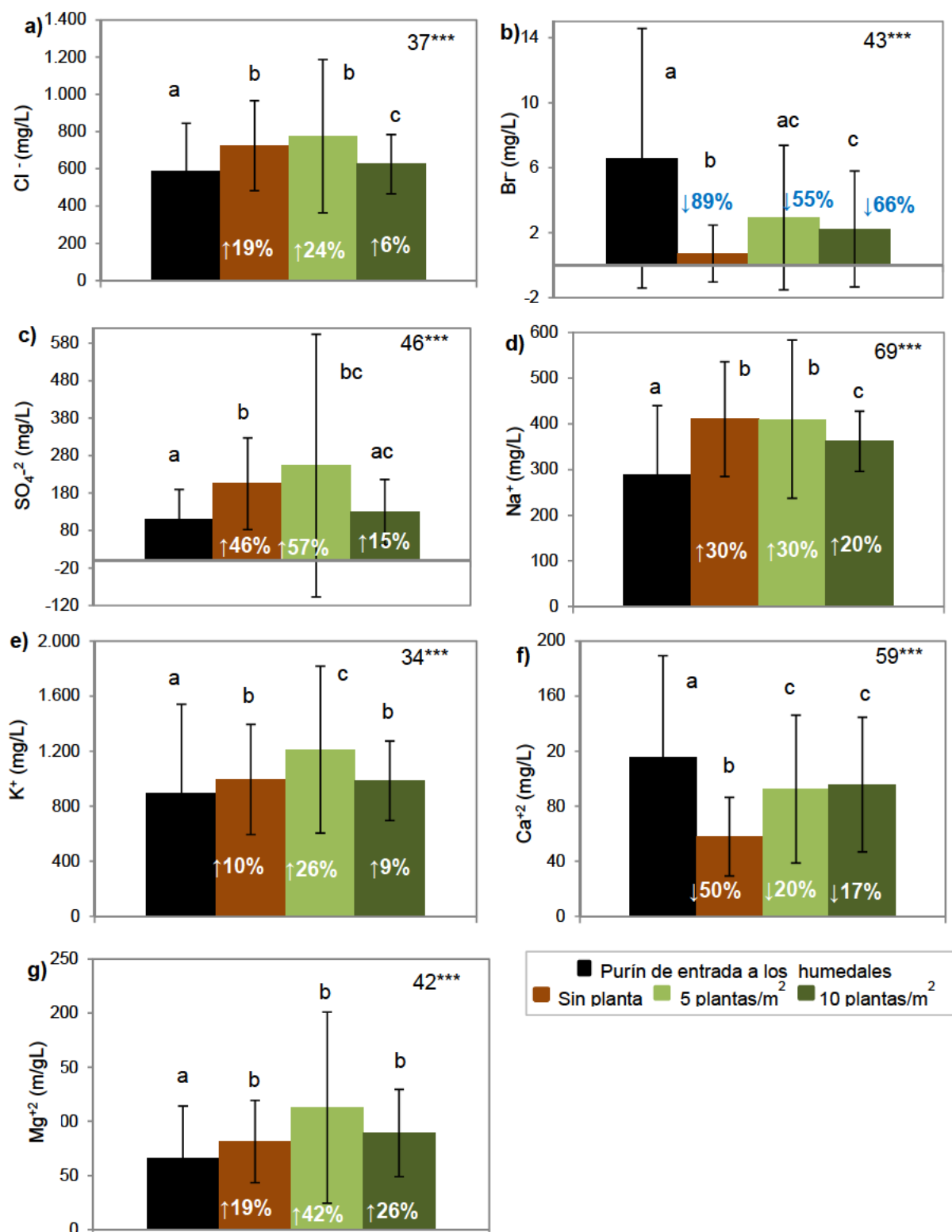


Figura IV.3.7. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). Chi^{2***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Los principales procesos de depuración que ocurren en los humedales artificiales con vegetación (fitorremediación) son la absorción por parte de la planta, la fitovolatilización, la acumulación de los contaminantes, la degradación en la rizosfera por activación de poblaciones microbianas, la adsorción en la rizosfera y la transformación metabólica (Harvey *et al.*, 2002; Susarla *et al.*, 2002).

Por tanto, la estimulación de las comunidades microbianas en la rizosfera de la vegetación mediante la aportación de superficie radicular para el crecimiento, fuentes de carbono a través de los exudados radiculares y un ambiente aeróbico por liberación de oxígeno por las raíces es un factor crítico para la depuración de la carga orgánica de las aguas residuales, sean de origen doméstico o ganadero (Tanner, 2001; Gagnon *et al.*, 2006).

Los iones normalmente no se acumulan o se alteran a su paso por el humedal, ya que permanecen disueltos y es muy difícil su eliminación (Kadlec y Knight, 1996). Además, la alta evapotranspiración registrada en el humedal puede haber contribuido a la concentración de estos elementos. Este comportamiento ha sido observado previamente por otros autores, como Finlayson *et al.* (1997) que detectaron incrementos del 50% en Cl^- tras la depuración de aguas residuales con humedales. El hecho de que no se reduzcan los niveles de SO_4^{2-} puede comprometer en ocasiones el funcionamiento del humedal, ya que este anión puede ser altamente tóxico para microorganismos y macrófitos, siendo además un competidor en el consumo de oxígeno (Koch y Erskine, 2001; Pedersen *et al.*, 2004).

En algunos estudios, a pesar de que los sistemas con vegetación presentaron la mejor eliminación de CF, especialmente en los meses más cálidos, las diferencias del funcionamiento anual de los sistemas sin vegetación no fueron significativas. Estos resultados concuerdan con algunos autores (Green *et al.*, 1997b; Karathanasis *et al.*, 2003) pero se contradicen con otros en los que la presencia de vegetación drásticamente mejoró la eliminación de CF (Rivera *et al.*, 1995; Soto *et al.*, 1999).

El biofilm de las raíces provee un sustrato más efectivo que la grava para la eliminación de bacterias a través de filtración mecánica, sedimentación, adsorción, depredación y excreción antibiótica (Soto *et al.*, 1999).

Existen estudios donde este efecto no se observa (Karathanasis *et al.*, 2003), una de las razones que este efecto no se materialice en este estudio puede ser la existencia de la variabilidad inherente entre y con los sistemas no sólo en el tipo de vegetación sino en otros parámetros de diseño críticos tales como el tamaño, edad, número de residentes, tratamientos primarios, sustrato y caga hidráulica y de masa.

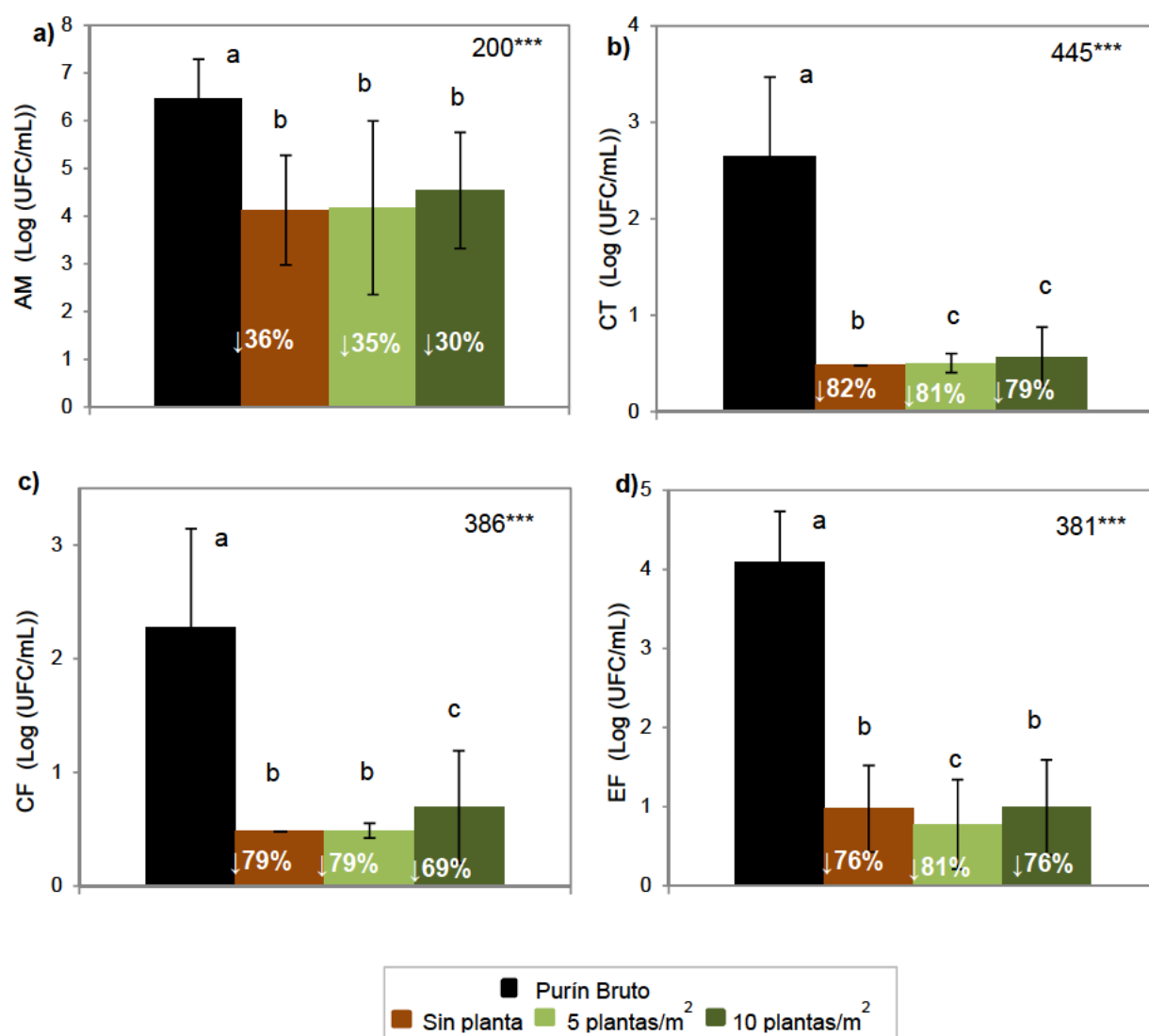


Figura IV.3.8. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto y de las muestras a la salida de los humedales sin planta y diferentes densidades de planta. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín bruto.

Cuando varios de estos parámetros no pueden ser proporcionales o compensarse con otros, sus efectos pueden ensombrecer la influencia de las especies de las plantas o su ausencia en el funcionamiento del tratamiento.

Esta es una de las desventajas de trabajar en sistemas en campo a diferencia con otros experimentales con un mesocosmos uniforme. Sin embargo, los resultados son necesarios no solo para las comparaciones sino porque ellos representan diseños reales de sistemas de campo (Srinivasan *et al.*, 2000).

Algunos autores han mostrado que entre los sistemas con vegetación, los humedales policultivados permitieron la mejor eliminación de CF a lo largo del año, mientras que los humedales con *Festuca sp* (un género de gramíneas) mostraron las mayores fluctuaciones estacionales, siendo particularmente inestables durante el verano y el invierno (Karathanasis *et al.*, 2003). Ello sugiere que diversas especies pueden proveer una mayor y eficaz división espacial y temporal de las zonas de las raíces, y por tanto exceden la habilidad de los sistemas monocultivados (Karpiscak *et al.*, 1996; Coleman *et al.*, 2001). Este funcionamiento débil mostrado por los sistemas con *Festuca sp* es el resultado de las raíces poco profundas de las plantas y de la disponibilidad limitada de biofilm para la adsorción de bacterias y proliferación de depredadores microbiológicos (Karathanasis *et al.*, 2003).

Karathanasis *et al.* (2003) observaron que el porcentaje medio de eficiencia de eliminación de estreptococos tuvo un rango de entre el 93% en los sistemas con *Typha latifolia*, hasta el 98% en sistemas policultivados, pero sin diferencias significativas ($P>0,05$). Estos mismo autores no observaron la superioridad de sistemas con vegetación sobre los de sin planta en la eliminación de EF, también observado por Soto *et al.* (1999).

A pesar de los altos porcentajes de carga, los sistemas con vegetación también mostraron una gran y significativa ($P<0,05$) eliminación anual de DBO₅ y STS, mayores que en los sistemas sin plantas, con una ligera disminución durante el invierno. Aparentemente, las raíces de las plantas y la caída de residuos en los humedales plantados proveen una mayor y efectiva filtración que la grava sola, al mismo tiempo que un incremento asociado de área superficial y fuente de alimento para la población microbiológica (Karathanasis *et al.*, 2003).

Los sistemas policultivados parecieron proveer el mejor y más consistente tratamiento para todos los parámetros, siendo el menos susceptible a las variaciones de estación. La presencia de diversas especies puede proveer una mayor y efectiva distribución de la biomasa enraizada y un hábitat para una mayor y diversa población microbiana que los sistemas monocultivados. (Karathanasis *et al.*, 2003).

El funcionamiento de los sistemas con vegetación pueden mejorar mediante la cosecha de las plantas al final de la estación de crecimiento, evitando así cargas extras de DBO₅ y STS añadidos al humedal de la caída de biomasa de a finales de otoño y principio de primavera.

Karathanasis *et al.*, 2003 encontraron que los sistemas sin planta mostraron mejores eficiencias de eliminación para las bacterias fecales pero los humedales con planta mostraron mejores eficiencias de DBO₅ y STS, por lo que se recomiendan los humedales con planta

Descripción de las plantas desarrolladas en el humedal.

A lo largo del desarrollo de estos humedales artificiales se ha podido observar como otras especies vegetales de forma espontánea han crecido en ellos especialmente en los humedales sin planta. La mayoría de estas plantas autóctonas han tenido un periodo corto de supervivencia, demostrándonos que *P. australis* es una especie altamente resistente a las condiciones climatológicas tan extremadas en las que en la Región de Murcia tienen lugar, la gran capacidad de asimilar concentraciones elevadas de nutrientes y soportar altas salinidades. Por otro lado, en aquellos humedales en donde la densidad de plantación de *P. australis* fue mayor, hubo menos competencia de estas especies foráneas.

Se realizó una identificación de las especies que generalmente suelen brotar por primavera y otoño, (Cebrián, et al. 2007). La descripción de las siguientes especies se ha ordenado según algunos criterios relativos a la coloración de las flores (amarillas, azuladas, blancas, rojizas, rosadas y verdosas, poco vistosas o ausentes) y secundariamente por el porte (árboles, arbustos, herbáceas, anual, bianual o perenne; tamaño; etc.). Junto al nombre científico y en su caso, se detalla el nombre común. A continuación se expresan de forma aproximada la altitud mínima y máxima entre las que suele hallarse la planta en la Región de Murcia, seguida de la indicación en números romanos del intervalo de meses de floración. Siguen a continuación secciones describiendo las hojas, flores y frutos. La sección titulada hábitat describe bajo qué condiciones ecológicas es más probable encontrar la especie. El apartado de usos está dedicado a indicar si la planta tiene algún tipo de utilidad o se le atribuyen determinadas propiedades (medicinales, condimentarias, aromáticas, mágicas, etc.).

En la sección de observaciones se detallan especies o subespecies próximas a la tratada, aspectos llamativos, su origen geográfico y otras anotaciones de interés.

En lo que respecta al porte, se ha distinguido entre árboles, arbustos y plantas herbáceas. Se consideran:

Árboles a aquellas plantas perennes y leñosas que muestran un tronco principal que se empieza a ramificar muy por encima del nivel del suelo.

Arbustos son plantas leñosas, al menos en la base, pero que, independientemente de la altura que pueden alcanzar, no presentan un tallo o tronco principal bien diferenciado, ya que se ramifican prácticamente desde la base.

Plantas herbáceas tienen un predominio de partes verdes más o menos flexibles, pudiendo presentar tallos más o menos ramificados. A veces las herbáceas se extienden formando céspedes o presentan numerosos tallos y hojas agrupadas en fajos o macollas.

***Phragmites australis* (cav.). Trin. Ex Steudel.**

Nombre común: Carrizo, cañizo.

Familia: Gramíneas.

Altura: 0- 1300 m.

Floración: VII- X



Foto IV.5. *Phragmites australis*.

Porte: perenne, con rizoma largo y serpenteante, tallos con entrenudos largos (cañas), algo flexibles de 1- 4 m de altura, en general crece en grupos densos, formando carrizales.

Hojas: verde azuladas, largamente acuminadas, de 20- 50 x 1- 4 cm, envainando los nudos del tallo; lígula formada por una fila de pelos.

Flores: poco vistosas, en panículas densas, plumosas, a menudo purpúreas, de 10- 50 cm de longitud; espiguillas con pelos sedosos, raquis floral peloso y glumillas muy desiguales entre sí.



Foto IV.6. Partes de *Phragmites australis*. Fuente: e-ciencia.com.

Frutos: secos (cariopsis), que se dispersan por el viento, gracias a los pelos sedosos que presentan.

Hábitat: bordes de zonas con agua dulce o salobre.

Usos: ocasionalmente utilizada para hacer cercas con los tallos secos.

Sisymbrium irio

Nombre común: Picantera, rabaniza.

Familia: Crucíferas.

Altura: 0- 1600 m.

Floración: X- VII.

Porte: planta herbácea erecta, anual, más o menos ramificada, débilmente pelosa de 10- 60 cm.



Foto IV.7. *Sisymbrium irio*.

Hojas: alternas, las inferiores pinnatipartidas, con el lóbulo Terminal mucho mayor que los restantes, las superiores de lobadas a enteras, hastadas y brevemente pecioladas.

Flores: amarillo pálidas, de 3- 4 mm de diámetro, con pecelos de 3- 15 mm, agrupadas en racimos. Tetrámeras; pétalos de 2,5- 6 mm, ligeramente más largos que los sépalos. 6 estambres.

Frutos: silicuas de 25- 60 x 0,7- 1 mm, con pedicelo de hasta 2 cm, pero mucho más delgado que el fruto.

Hábitat: inmediaciones de viviendas, escombreras, cultivos y márgenes de caminos.

Usos: alimento de conejos y pájaros.

Diploaxis lagascana

Nombre común: Rabaniza

Familia: Crucíferas

Altura: 0- 600 m.

Floración: XI- VIII



Foto IV.8. *Diploaxis lagascana*.

Porte: planta anual o mata bianual a perenne de 30- 120 cm, herbácea o ligeramente leñosa en la base, con tallos erectos y poco ramificados.

Hojas: alternas, más o menos carnosas y glaucas, las inferiores con 4- 6 lóbulos, las superiores de cortamente pecioladas a sésiles.

Flores: dispuestas en racimos; con 4 sépalos de 4- 6 mm, 4 pétalos amarillos, de 8- 11 mm y 6 estambres.

Frutos: silicuas de 20- 60 x 1,5- 3 mm, aplanadas, péndulas, con pedicelos de 6- 14 mm.

Hábitat: prados ricos en plantas anuales, especialmente en laderas inclinadas, taludes y terraplenes.

Usos: alimento del ganado; las hojas tiernas se consumen como verduras.

Observaciones: *Diploaxis ilorcitana* (Sennen) Aedo & al., pequeña hierba anual de frutos erectos y algunos pelos retrorsos en los entrenudos inferiores, es frecuente en suelos arcillosos.

Sonchus oleraceus

Nombre común: Cerraja, cerrajón, linzón, ensalá.

Familia: compuestas.

Altura: 0- 1500 m.

Floración: I- XII.

Porte: hierba anual, glabra o algo glandulosa en el ápice, de 10- 60 cm de altura, con látex.



Foto IV.9. *Sonchus oleraceus*.

Hojas: alternas, sinuadas, dentadas o pinnatidividas, con lóbulo Terminal mucho más ancho que los laterales; rara vez enteras; las inferiores pecioladas, las superiores patentes, abrazadoras y con lóbulos puntiagudos; las inferiores pecioladas.

Flores: todas en lígula de color amarillo, agrupadas en capítulos de 2- 2,5 cm, con varias filas de brácteas imbricadas.

Frutos: aquenios comprimidos, apostillados y transversalmente arrugados, con vilano de pelos sencillos.

Hábitat: cultivos e inmediaciones de viviendas.

Usos: como verdura las hojas tiernas.



Foto IV.10. *Sonchus tenerrimus*.

Observaciones: *Sonchus tenerrimus* L. es especie muy común en ambientes similares; está caracterizada por sus hojas, divididas en lóbulos independientes hasta la base siendo el Terminal muy similar a los laterales.

Mesembryanthemum nodiflorum

Nombre común: Barrilla, escarchada.

Familia: Aizoáceas.

Altura: 0- 700 m.

Floración: II- VI.



Foto IV.11. *Mesembryanthemum nodiflorum*

Porte: hierba anual, erecta o difusa, carnosa, de 5- 30 cm de altura.

Hojas: en general opuestas; lineares, de 10- 25 mm, carnosas, subcilíndricas, con algunas papilas cristalinas.

Flores: solitarias y terminales o sentadas en las axilas de las hoja; de hasta 1 cm de diámetro, con cinco sépalos carnosos y numerosos pétalos blancos muy estrechos, más cortos que los sépalos, estambres numerosos.

Frutos: cápsulas de unos 7 mm, que se abren por medio de cinco valvas.

Hábitat: zonas salinas alteradas y acantilados costeros.

Usos: como fuente de barrilla, para la industria del vidrio.



Foto IV.12. *Diplotaxis eruroides*.

Diplotaxis eruroides

Nombre común: oruga borde, rabaniza.

Familia: Crucíferas.

Altura: 0- 1200 m.

Floración: I- XII.

Porte: hierba anual a bianual, más o menos pelosa, ramosa, de 10- 50 cm.

Hojas: oblongas, las inferiores en roseta basal, lirado pinnatífidas, las superiores dentadas o subenteras, sésiles.

Flores: tetrámeras, en racimos más o menos alargados, sépalos pelosos, erecto patentes, de 4- 5 mm; pétalos de 8- 12 mm, blancos o rosados, con venas violetas.

Frutos: silicuas erecto patentes de 20- 40 x 2-3 mm, con valvas comprimidas; pedúnculos de 10- 26 mm.

Hábitat: mala hierba de cultivos.

Usos: en medicinas popular y como alimento de ganado.

Anacyclus clavatus

Nombre común: Manzanilla borde

Familia: compuestas.

Altura: 0- 1200 m.

Floración: III- VI.



Foto IV.13. *Anacyclus clavatus*.

Porte: hierba erecta, más o menos pelosa, de 10- 40 cm.

Hojas: alternas, oblongas, de 3- 10 cm, 2- 3 pinnatisectas, divididas en segmentos lineares.

Flores: en capítulos solitarios de 15- 40 mm de diámetro; las flores externas son lígulas blancas, las centrales flósculos amarillos; brácteas involucrales con margen escarioso estrecho, receptáculo con escamas obovadas.

Frutos: aquenios aplanados, los de la periferia del capítulo con alas obtusas.

Hábitat: márgenes de caminos.

Usos: alimento de ganado.

Lamium amplexicaule

Nombre común: Ortiga muerta, zapaticos de la virgen.

Familia: Labiadas.

Altura: 0- 1600 m.

Floración: XI- V.



Foto IV.14. *Lamium amplexicaule*.

Porte: hierba anual, erecta, poco ramificada, de 10- 40 cm, débilmente pubescente.

Hojas: decusadas, pecioladas, con limbo ovado, crenado lobado.

Flores: en 2- 3 verticilastros distantes entre ellos, con brácteas sésiles, suborbiculares y reniformes, más o menos amplexicaules; cálices con 5 sépalos muy

pelosos; corola pentámera, rosada, de 10- 20 mm, gamopétala, bilabiada, con tubo mucho más largo que el cáliz; 4 estambres soldados al tubo de la corola.

Frutos: 1- 4 núculas (clusas) en el fondo del cáliz.

Hábitat: cultivos.

Usos: ocasionalmente se han comido las inflorescencias hervidas.

Chenopodium murale

Nombre común: Cenizo, Salao verde.

Familia: Quenopodiáceas.

Altura: 0- 1200 m.

Floración: X- V.

Porte: hierba verde y brillante, de 10- 50 cm.



Foto IV.15. *Chenopodium murale*

Hojas: alternas, ovadas, cuneadas en la base, dentadas, de 1- 7 x 0,5- 5 cm, con pecíolo de 5- 20 mm.

Flores: hermafroditas, en panícula difusa y corta, parcialmente cubierta por las hojas; con 5 tépalos verdosos, más o menos carinados; 5 estambres y 2 estigmas.

Frutos: más o menos cubiertos por los tépalos; semillas negras, de 1- 1,5 mm.

Hábitat: escombreras, cultivos, inmediaciones de viviendas y otros lugares muy influidos por el hombre.

Usos: alimento de cerdos, ovejas y cabras.

Observaciones: de las aproximadamente 11 especies del género, otra de las más comunes es *chenopodium album* L., con óptimo desarrollo en verano.



Foto IV.16. *Chenopodium album*

Conyza bonariensis

Nombre común: Hierba gallinera, pino de la huerta.

Familia: compuestas.

Altura: 0- 1100 m.

Floración: VI- X.

Porte: hierba anual o bianual, erecta, de 10- 60 cm, pelosa y verde grisácea.



Foto IV.17. *Conyza bonariensis*

Hojas: alternas, de 2- 5 cm, las inferiores lanceoladas, generalmente dentadas, las medias y superiores sublineares, de 2- 6 x 0,2- 0,3 mm.

Flores: en capítulos de 8- 10 mm agrupados en panícula estrecha; con las flores externas en lígulas blanquecinas y las interiores en flóculos amarillentos.

Frutos: aquenios aplanados, con vilano de pelos rosados.

Hábitat: cunetas, baldíos, huertas.

Usos: alimento del ganado.

Observaciones: originaria de América del Sur.

Piptatherum miliaceum

Nombre común: Mijera, triguera.

Familia: gramíneas.

Altura: 0- 1000 m.

Floración: IV- X.

Porte: hierba perenne, rizomatosa, de 60- 150 cm, con tallos erectos y foliosos.



Foto IV.18. *Piptatherum miliaceum*

Hojas: alternas, de 3- 8 mm de anchura, ásperas en el haz, con lígula de hasta 1 mm, truncada.

Flores: poco vistosas, formando espiguillas unifloras de 3- 4 mm, que se agrupan en panícula amplia, de hasta 40 cm, con 4- 8 ramas erecto patentes por nudo, las principales sin espiguillas en la parte inferior.

Frutos: secos, monospermos.

Hábitat: cunetas, márgenes de caminos, ramblas y como invasora de huertos y jardines descuidados.

Usos: alimento para burros.

**IV.4. EFECTO DEL FACTOR
DE OPERACIÓN EN LA
EFICIENCIA DE LA
DEPURACIÓN DE LOS
HUMEDALES ARTIFICIALES:
TIEMPO DE RETENCIÓN
HIDRÁULICA (TRH).**

En esta experiencia, del total del volumen procesado, 195.187 L se procesaron a través de los humedales que operaron a TRH = 1 semana - 1 mes, 118.860 L para TRH = 1-2 meses, 108.966L para TRH = 2-4 meses y 168.845 L para TRH = 4-10 meses.

El total del volumen registrado a la salida de los humedales que operaron a 1 semana - 1 mes, 1-2 meses, 2-4 meses y 4-10 meses fue 146.647 L, 121.247 L, 85.928 L y 110.463 L respectivamente, estimando unas pérdidas de volumen del 25%, -2%, 21% y 35% respectivamente, por lo que se observa que la mayor pérdida de volumen por evapotranspiración correspondió a los humedales de mayor TRH, destacando un porcentaje negativo en uno de los rangos de TRH estudiados, que puede deberse a que en ese periodo se registraron muchas lluvias.

A la hora de discutir el efecto del TRH en la eficiencia de depuración, se parte de la dificultad de realizar comparativas con otros estudios, ya que en la bibliografía consultada no se han encontrado humedales que operen a flujos intermitentes, llenado por lotes o TRH fijos. Es decir, en los estudios consultados el flujo de entrada de influente a través del humedal se realiza de forma continua y los tiempos de retención se estiman en función del caudal (Q) previamente conocido y volumen procesado. Ciertos factores son especialmente relevantes, o aún bajo discusión, en tales estudios, como son la presencia o ausencia de plantas (Drizo *et al.*, 2000; Ciria *et al.*, 2005; Akrotos y Tsihrintzis, 2007), las especies de plantas elegidas (Brisson y Chazarenc, 2009), el tipo de flujo (Kim *et al.*, 2007), la matriz de grava o el tipo de suelo usado (Zhao *et al.*, 2004; Dordio *et al.*, 2007; Chan *et al.*, 2008), la carga orgánica aplicada (García *et al.*, 2004a) o el TRH (García *et al.*, 2004b; Akrotos y Tsihrintzis, 2007). Aunque varios manuales sobre diseños listan el TRH como un criterio de diseño crítico (WPCF, 1990; USEPA, 1991; Reed *et al.*, 1995), Newman *et al.* (2000) declararon que no hay correlación entre el TRH y los valores de concentración a la salida cuando el promedio de TRH fue 41 y 12 días.

Los humedales artificiales están normalmente diseñados para recibir un porcentaje de carga hidráulica (HLR), siendo $HLR = Q/A = 1-5 \text{ cm/d}$, donde Q es el porcentaje de flujo volumétrico a través del humedal y A es el área (Kadlec y Knight, 1996). La vegetación en la regiones inundadas puede ser caracterizada por la fracción de volumen de vegetación (no dimensional) \emptyset , la cual normalmente se encuentra en un rango $\emptyset = 0,01-0,15$ en humedales de agua dulce (Jadhav y Buchberger, 1995). El tiempo de retención hidráulica nominal (τ) de un humedal es $\tau = (1 - \emptyset) (V/Q)$, donde V es el volumen. Los humedales artificiales trabajan normalmente con $\tau = 7-14 \text{ d}$ (Kadlec y Knight, 1996).

Para casi todos los procesos de depuración, ésta se maximiza trabajando con circulaciones con flujo pistón, resultando que el movimiento del agua a través del humedal viaja a la misma velocidad, y toda el agua se acerca a la salida exactamente al tiempo de tiempo de retención hidráulica nominal τ . Esta situación ideal nunca se observa en muchos humedales, la presencia de zonas muertas suelen bloquear el canal principal de flujo resultando una detención del tiempo efectivo del sistema que hace que sea menor que τ .

Está bien reconocido que la eliminación de básicamente todos los contaminantes de interés en los humedales artificiales se pueden describir usando un modelo cinético del flujo a pistón de primer orden, incluyendo los STS, nitrógeno inorgánico, NO y DBO₅ (Kadlec y Knight, 1996; Tanner *et al.*, 1995; Walker, 1995; Kadlec, 1997; Reilly *et al.*, 2000; IWA, 2000; Wong *et al.*, 2000; Wong *et al.*, 2006). Kadlec *et al.*, 2000 mostraron que este modelo cinético tiene deficiencias pero a pesar de ello es aún el más apropiado modelo de diseño para describir la eliminación con respecto al conocimiento actual (IWA, 2000).

Sin embargo, en esta tesis se muestra una experiencia donde se pretendió estudiar el comportamiento de estos sistemas de depuración, operando de una manera diferente al resto, atendiendo a las características tan especiales del efluente tratado, como lo es el purín de cerdo, caracterizado por su alta carga orgánica y en otros muchos parámetros físico-químicos y microbiológicos comparados con un agua residual de origen urbano. Estos humedales artificiales de flujo horizontal subsuperficial no continuo y trabajo por lotes, se fueron llenando con volúmenes registrados de purín previamente tratado, (tras la fase de decantado) de acuerdo a la capacidad del humedal, ya que fue variando con el paso del tiempo por el crecimiento de los macrófitos. El influente permaneció en el humedal durante diferentes tiempos de retención para recopilar un amplio rango de resultados que fueron agrupados en diferentes rangos de TRH y de esta manera evaluar la eficiencia de depuración con respecto a este factor de operación.

Como resultado de esta novedad, desde el grupo de investigación GARSA de la Universidad Politécnica de Cartagena y el Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario se solicitó la patente de invención cuyo título es "*Humedal artificial y uso del mismo para la fitopurificación de efluentes líquidos*" que fue concedida con examen previo en enero de 2012 por la Oficina Española de Patentes y Marcas, (Caballero-Lajarín *et al.*, 2012).

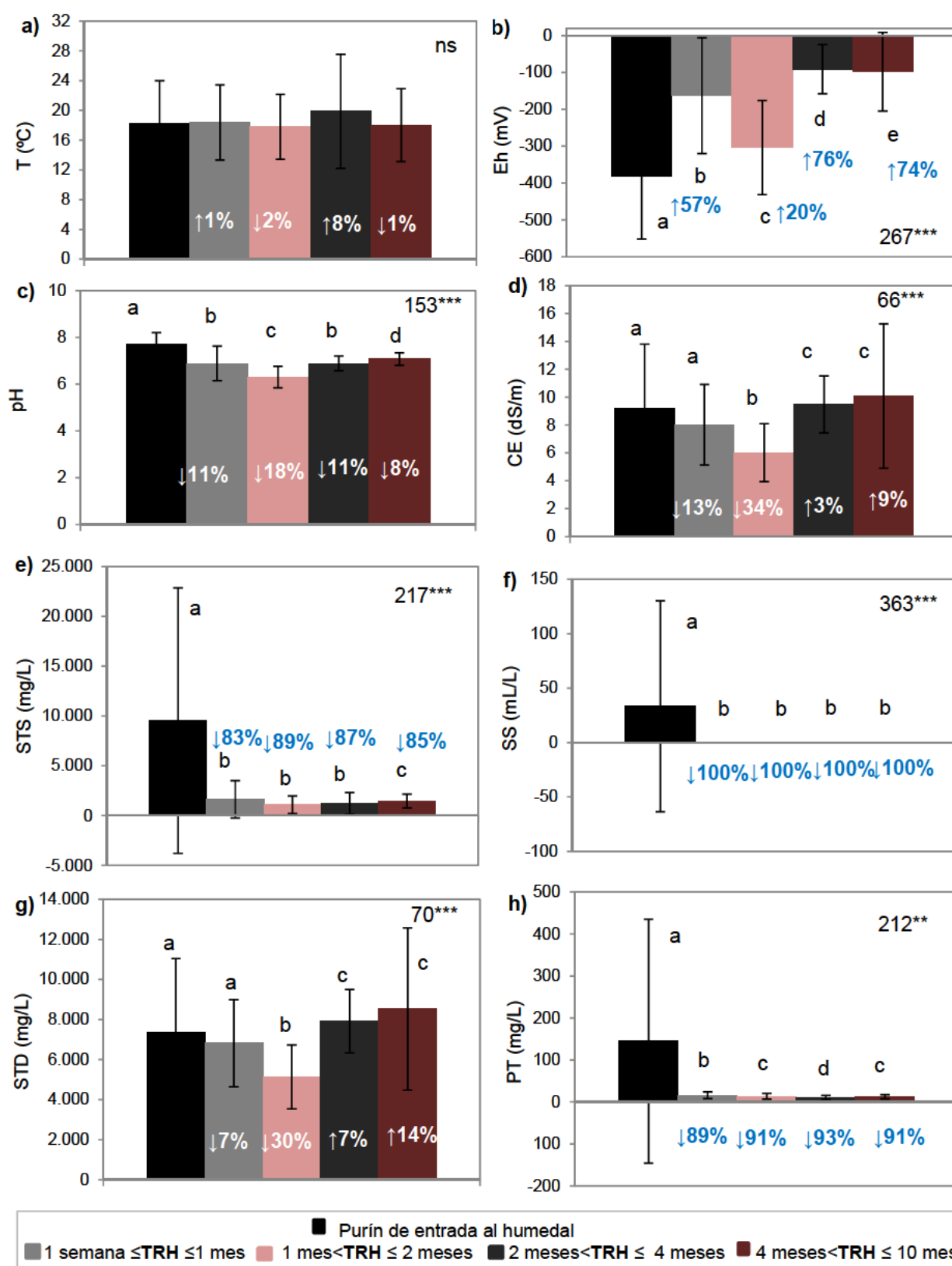


Figura IV.4.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales según el correspondiente tiempo de retención hidráulica. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Según los resultados obtenidos, todos los parámetros analizados han mostrado diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el purín de entrada, y el de los efluentes de salida de los cuatro rangos de TRH estudiados con los que se ha operado en los humedales, a excepción de la T (**Fig. IV.4.1.a**), la cual presentó un rango de variación de entre ascensos del 8% y descensos del 2%.

Por otro lado, comparando los valores de los efluentes de salida de los cuatro rangos de TRH estudiados, se ha encontrado que no existen diferencias significativas ($P > 0,05$) para los SS, presentando en todos los rangos de TRH una eliminación del 100%. Tampoco se mostraron diferencias significativas en *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* resultando 100% negativas (**Fig. IV.4.1-4**).

Los valores de Eh (**Fig. IV.4.1.b**) aumentaron en un 57% (haciéndose menos negativos) en rangos de TRH de entre 1 semana y 1 mes, pero tras ese tiempo a rangos de TRH entre 1 y 2 meses se produjo una disminución con respecto al rango anterior, pero manteniéndose menos negativo que la media de entrada en un 20%. El Eh en general se incrementó significativamente comparado con el de entrada conforme aumentaron los TRH hasta TRH = 2-4 meses, con una variación del 76%. Este comportamiento es debido a que la oxigenación por parte de las plantas es mayor conforme más tiempo esté el efluente en el humedal (Tanner *et al.*, 2002). Por tanto, la estimulación de las comunidades microbianas en la rizosfera de la vegetación mediante la aportación de superficie radicular para el crecimiento, fuentes de carbono a través de los exudados radiculares y un ambiente aeróbico por liberación de oxígeno por las raíces es un factor crítico para la depuración de la carga orgánica de las aguas residuales, sean de origen doméstico o ganadero (Tanner, 2001; Gagnon *et al.*, 2006).

El transporte de oxígeno por difusión y flujo de masa mediante las raíces de las plantas y su liberación en la zona de las raíces de las plantas (Armstrong *et al.*, 1990) puede incrementar los potenciales redox en el sustrato, mejorando la descomposición microbiana y los porcentajes de nitrificación (Howard-Williams, 1985; Gersberg *et al.*, 1986) e incrementando la capacidad de adsorción y absorción de PT (Wathugala *et al.*, 1987).

El pH (**Fig. IV.4.1.c**) va disminuyendo significativamente conforme aumentan los TRH hasta 2 meses (18%); tras ese tiempo comienza a experimentar un ascenso significativo respecto al rango anterior como también observaron otros investigadores (Collins *et al.*, 2004; Lee y Scholz, 2007; Díaz *et al.*, 2010).

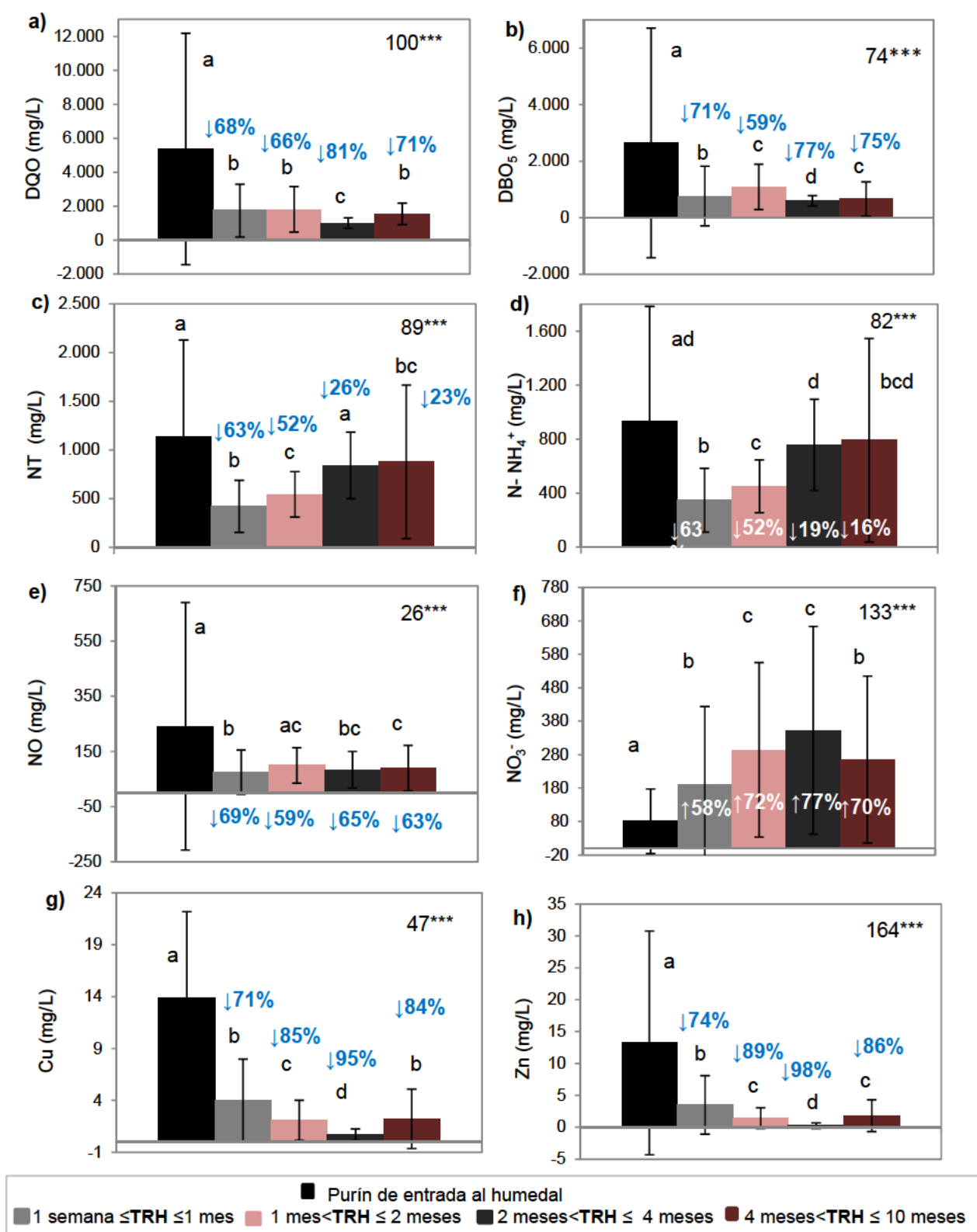


Figura IV.4.2. Valores promedio de DQO, DBO₅, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cu y Zn de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales según el correspondiente tiempo de retención hidráulica. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{****} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Como en capítulos anteriores ya se ha comentado, las plantas contribuyen al descenso del pH mediante el proceso de respiración y descomposición de compuestos orgánicos (Collins *et al.*, 2004). En este caso, el descenso del pH puede deberse a la conversión de NH_4^+ a NO_2^- que libera H^+ al medio, y por tanto, provocan un ligero descenso en el pH, ya que la mayor parte de estos iones H^+ son neutralizados por los bicarbonatos del agua.

De forma análoga le sucede a la CE (**Fig. IV.4.1.d**) y STD (**Fig. IV.4.1.g**), experimentando el mayor descenso, 34% y 30% respectivamente, a rangos de TRH entre 1 y 2 meses. Tras ese TRH la CE y los STD comienzan a aumentar un 3% y 7% respectivamente, superando los valores de entrada a rangos de TRH entre 2 y 4 meses y un 9% y 14% a rangos de TRH entre 4 y 10 meses. De acuerdo con Finlayson *et al.* (1997) altos tiempos de retención hidráulica favorecen la concentración de sales por evapotranspiración.

Los STS (**Fig. IV.4.1.e**) no han mostrado diferencias significativas entre las medias obtenidas de los tres primeros rangos de TRH, consiguiéndose en estos rangos el mayor porcentaje de eliminación en un intervalo de 83-89%. Porcentajes similares se han encontrado en otros estudios (Thomas *et al.*, 1995; Tanner *et al.*, 1995; Karathanasis *et al.*, 2003; Lee y Scholz, 2007).

Un comportamiento análogo al de la CE y de los STD se ha observado en los iones SO_4^{-2} (**Fig. IV.4.1.c**), Na^+ (**Fig. IV.4.3.d**), K^+ (**Fig. IV.4.3.e**) y Mg^{+2} (**Fig. IV.4.3.g**). De forma general, a rangos de TRH de 1 semana y 1 mes se produce un aumento de las concentraciones de los iones SO_4^{-2} , Na^+ , K^+ y Mg^{+2} con respecto a las de entrada siendo de 69%, 35%, 16% y 45% respectivamente. A TRH superiores, entre 1 y 2 meses, se observa que las concentraciones comienzan a aumentar en menor medida con respecto a las medias encontradas en el rango anterior de TRH, siendo para el SO_4^{-2} y el Na^+ 34% y 12%, y encontrándose descensos para el K^+ y Mg^{+2} del 18% y 2%, respectivamente. A TRH superiores a 2 meses se vuelve a producir un aumento significativo y progresivo de estas concentraciones conforme aumentan los tiempos. Los iones a su paso por el humedal, permanecen disueltos y es muy difícil su eliminación como también observaron otros investigadores (Kadlec y Knight, 1996; Finlayson *et al.*, 1997; Koch y Erskine, 2001; Pedersen *et al.*, 2004).

Para el caso de NO_3^- (**Fig. IV.4.2.f**) se observa que las concentraciones aumentan progresivamente conforme va aumentando el TRH, con incrementos del 58%, 72% y 77% respectivamente en los tres primeros rangos de TRH estudiados hasta los 4 meses; tras

ese tiempo se observa un menor aumento de las concentraciones respecto a los rangos de TRH anteriores pero manteniéndose por encima de la concentración de entrada en un 70%. Este hecho muestra que en los humedales debido a la acción de los macrófitos predomina un proceso de nitrificación lo que hace aumentar la concentración de NO_3^- (Huang *et al.*, 2000).

De los iones estudiados el Br^- (**Fig. IV.4.3.b**) y el Ca^{+2} (**Fig. IV.4.3.f**) siguen un comportamiento similar entre ellos respecto a los rangos de TRH estudiados. Al contrario del resto de iones, las concentraciones de ambos disminuyeron comparada con la de entrada. Los mayores porcentajes de eliminación significativa para estos dos iones se observaron en el rango de TRH = 1-2 meses, siendo 97% y 56% respectivamente para el Br^- y el Ca^{+2} . La precipitación de Ca^{+2} como fosfato suele provocar el descenso en este catión (Drizo *et al.*, 1999). Este rango de TRH entre 1 y 2 meses favoreció el mayor descenso significativo en CT (82%) (**Fig. IV.4.4.b**). Sin embargo, para el caso de los AM (**Fig. IV.4.4.a**) y CF (**Fig. IV.4.4.c**), se obtuvieron mayores eliminaciones para los rangos de TRH = 1-2 meses y TRH = 2-4 meses, sin diferencias significativas entre ellos.

A un TRH = 2-4 meses, se observó una mayor disminución significativa de DBO_5 (77% (**Fig. IV.4.2.b**)), DQO (81% (**Fig. IV.4.2.a**)), PT (93% (**Fig. IV.4.1.h**)), Cu (95% (**Fig. IV.4.2.g**)), Zn (98% (**Fig. IV.4.2.h**)) y EF (82% (**Fig. IV.4.4.d**)). Otros investigadores mostraron comportamientos semejantes con respecto a estos parámetros (Keller *et al.*, 1998; Windham *et al.*, 2003; Soudek *et al.*, 2004; Vandecasteele *et al.*, 2005), Martin y Johnson, 1995).

La asimilación de metales por parte de las plantas acuáticas está influida por varios factores, tales como la T, pH, luz (Greger, 1999), y la presencia de otros metales en el agua, todos los cuales alteran la asimilación de metales pesados en el tejido (Blaylock y Huang, 2000). Otros estudios indicaron altas eficiencias de eliminación (>90%) de Cu y Zn en humedales artificiales (Junsan *et al.*, 2000; Lesage, 2006; Gersberg *et al.*, 1984a). El rango de TRH = 1 semana-1 mes es el que ha permitido una mayor y significativa eliminación de NT (**Fig. IV.4.2.c**), N-NH_4^+ (**Fig. IV.4.2.d**) y NO (**Fig. IV.4.2.e**), siendo del 63%, 63% y 69%, respectivamente.

Algunos estudios sobre tratamiento de aguas residuales de origen porcino y lecherías mediante humedales han mostrado eliminaciones de NT y PT entre el 48-98% y el 35-96%, respectivamente, dependiendo de las condiciones de carga de nutrientes y edad del humedal, generalmente con eliminaciones tanto más altas cuanto más bajos sean los porcentajes de carga que se procesen en los humedales (Hammer *et al.*, 1993; Hunt y Poach, 2000; Newman *et al.*, 2000; Schaafsma *et al.*, 2000).

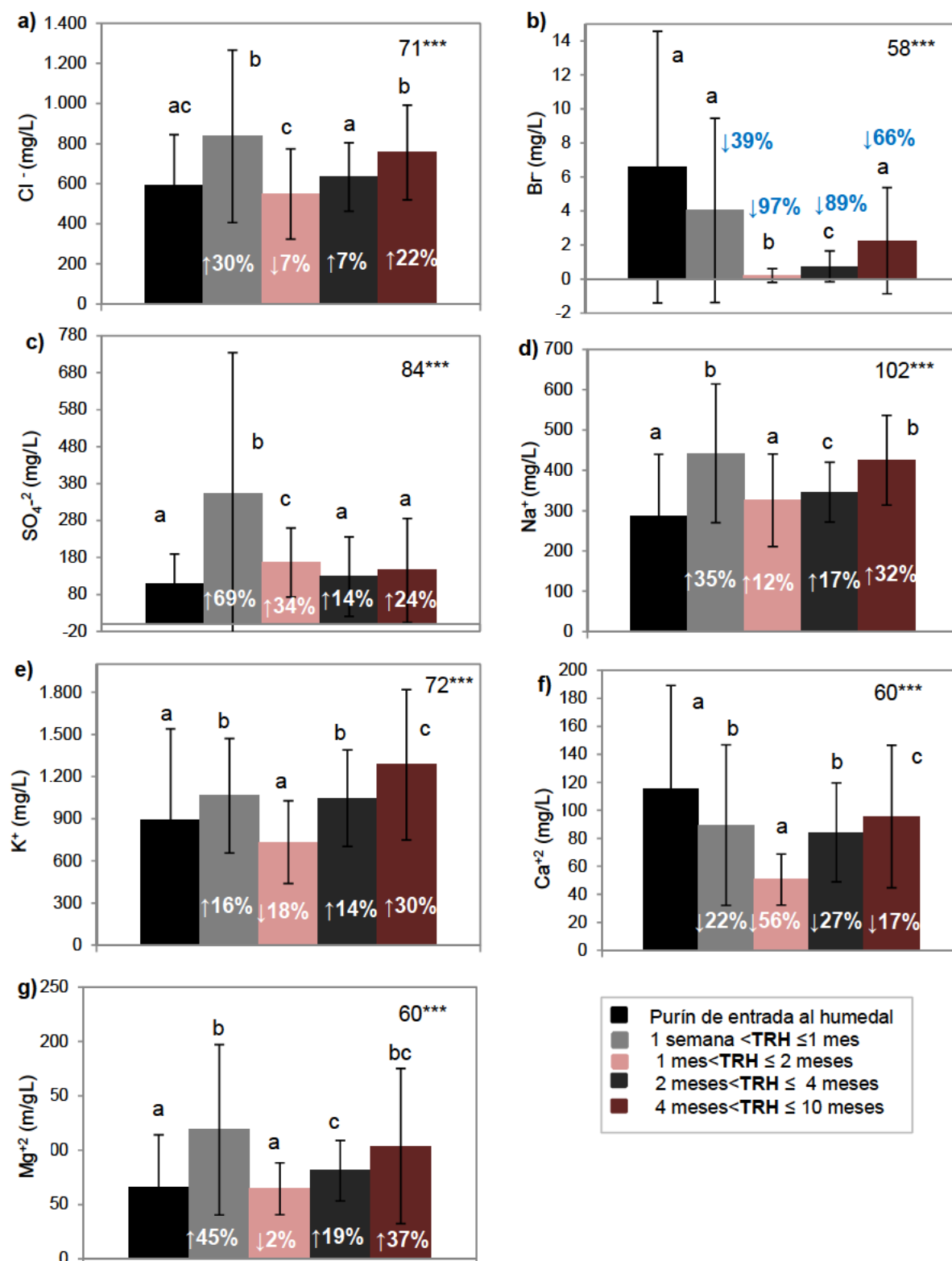


Figura IV.4.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) de las muestras de purín pre-tratado de entrada a los humedales y de las muestras a la salida de los humedales según el correspondiente tiempo de retención hidráulica. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). Chi^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Es bien conocido que las eficiencias de eliminación de DBO₅, DQO, y STS están relacionadas con los TRH (Belmont y Metcalfe, 2003; Chen *et al.*, 2006; Chan *et al.*, 2008; Kadlec y Wallace, 2009). Cuando el efluente permanece en contacto con los macrófitos se promueven una gran variedad de reacciones químicas y bioquímicas (Jenssen *et al.*, 1993). Resultados similares de DBO₅, DQO y STS a este estudio se han encontrado en otros estudios (Brix, 1994; Verhoeven y Meuleman, 1999; Gray *et al.*, 2000; Vymazal, 2005; Tsihrintzis *et al.*, 2007; Babatunde *et al.*, 2008). La importancia de los TRH se explica por el hecho que los TRH más largos incrementan la exposición de las bacterias a los procesos de eliminación, tales como la sedimentación, adsorción de materia orgánica, depredación, impacto de toxinas de microorganismos o plantas y radiación UV (Vymazal, 2005; Tanner *et al.*, 1995; Toet *et al.*, 2005).

La asimilación de PT en los humedales artificiales depende de factores tales como la concentración de PT del influente, el porcentaje del ciclo de biomasa interna y la edad del humedal (Kadlec, 1999; Wallace y Knight, 2006). Sin embargo, los largos periodos de almacenamiento de PT en estos sistemas están unidos al ciclo del PT a través del crecimiento, muerte y caída de la biomasa de la planta. Estudios previos sobre la estructura de los ecosistemas de los humedales y función han mostrado que el suelo es el más importante ecosistema de almacenamiento de PT (Richardson y Marshall, 1986).

Por el contrario, la eficiencia de eliminación de DQO se relacionó con los TRH en algunos estudios (Belmont y Metcalfe, 2003; Chen *et al.*, 2006; Chan *et al.*, 2008). Kucuk *et al.* (2003) reportaron una eliminación máxima de DQO del 30% para las aguas residuales de la industria del curtido con una concentración de entrada de 300 mg/L, usando un tiempo de retención de 8 días. En España, se usaron humedales artificiales de flujo subsuperficial para tratar aguas residuales municipales durante 3 años con TRH entre 10 y 2,4 días, y la eficiencia de eliminación para la DQO fue entre 53 y 83% (García *et al.*, 2005).

Algunos de los principales procesos para la transformación del nitrógeno en los humedales artificiales son la nitrificación, desnitrificación y oxidación anaerobia del amonio (Shipin *et al.*, 2005; Vymazal, 2007), los cuales son procesos microbiológicos (Wallace y Knight, 2006). Se espera que la eliminación del nitrógeno varíe e incremente con el paso del tiempo cuando la vegetación se estabiliza y haya disponible suficiente carbono para la desnitrificación (Kadlec y Knight, 1996).

Algunos investigadores mostraron que la eficiencia de eliminación de los humedales artificiales fue más del 90% cuando el TRH fue 2 días (Xinshan *et al.*, 2010). En otros estudios asumiendo un régimen hidráulico de flujo a pistón y TRH de 2,6, 3,9, y 5,9 días, las concentraciones de N-NH₄⁺ y NT disminuyeron con el incremento del tiempo

de residencia en los humedales mientras que las concentraciones de NO_3^- no cambiaron en función del tiempo (Reed *et al.*, 1994; Huang *et al.*, 2000), a diferencia de los resultados obtenidos en esta tesis.

En Tailandia, se realizó un estudio de un sistema (1 m de ancho, 4 m de largo, y 1,5 m de profundidad) el cual trabajó durante 101 días con un flujo continuo superficial de agua con tiempos de 2 y 5 días y un rango de porcentajes de carga de 60-150 mm/d. Al agua residual se le añadió NaCl para simular una concentración salina de aproximadamente 14–16 mS/cm. Las eficiencias de eliminación fueron de 43,2–56,0% para los STS, de 67,4–76,5% para el N-NH_4^+ y 28,9–44,9% para el PT (Klomjek y Nitisoravut, 2005).

En Nueva Zelanda, humedales artificiales de flujo horizontal subsuperficial (2 m de ancho, 9,5 m de largo, y 0,6 m de profundidad) trataron aguas residuales de origen lechero durante 20 meses con un tiempo nominal de 7, 5,5, 3 y 2 días. Cuando los tiempos teóricos de retención del agua residual incrementaron de 2 a 7 días, los porcentajes medios de reducción de NT se incrementaron de 12 a 41% y de 48 a 75% en humedales sin planta y con planta, respectivamente, y la eliminación de PT aumentó de 12 a 36% y 37 a 74%, respectivamente, (Tanner *et al.*, 1995).

Durante 3 años en Grecia usaron humedales artificiales de flujo libre superficial a escala piloto para tratar aguas residuales de origen de la industria de materiales sintéticos con TRH de 6, 8, 14 y 20 días. Las eficiencias de eliminación más altas fueron del 71% para el NT y N-NH_4^+ y 62% para el PT con un TRH de 20 días, y del 79% para la DQO con un TRH de 14 días, (Kotti *et al.*, 2010).

En este mismo país, durante dos años usaron a escala piloto tanto humedales artificiales de flujo libre de agua superficial como de flujo horizontal para tratar aguas residuales originadas por residuos de autovía, empleando TRH de 12 h y 24 h. Los sistemas actuaron de una forma similar y las eficiencias de eliminación fueron 47% para DQO, 89% para STS, 49% para NT, 58% para NO_3^- , 60% para PT, 47% para Cu y 61% para Zn, (Terzakis *et al.*, 2008).

Maine *et al.* (2009) trataron aguas residuales de origen de la industria de herramientas durante un año en Argentina en humedales artificiales de flujo con agua libre superficial (50 m de ancho, 40 m de largo, y 0,5-0,8 m de profundidad) con rangos de TRH de 7 a 12 días. Las eficiencias de eliminación para STS, y los iones Ca^{+2} , Mg^{+2} , SO_4^{-2} , Cl^- , Na^+ y K^+ , PT, NO_3^- , y DQO fueron 36%, 34%, 5%, 34%, 34%, 34%, 5%, 6%, 68% y 72% respectivamente.

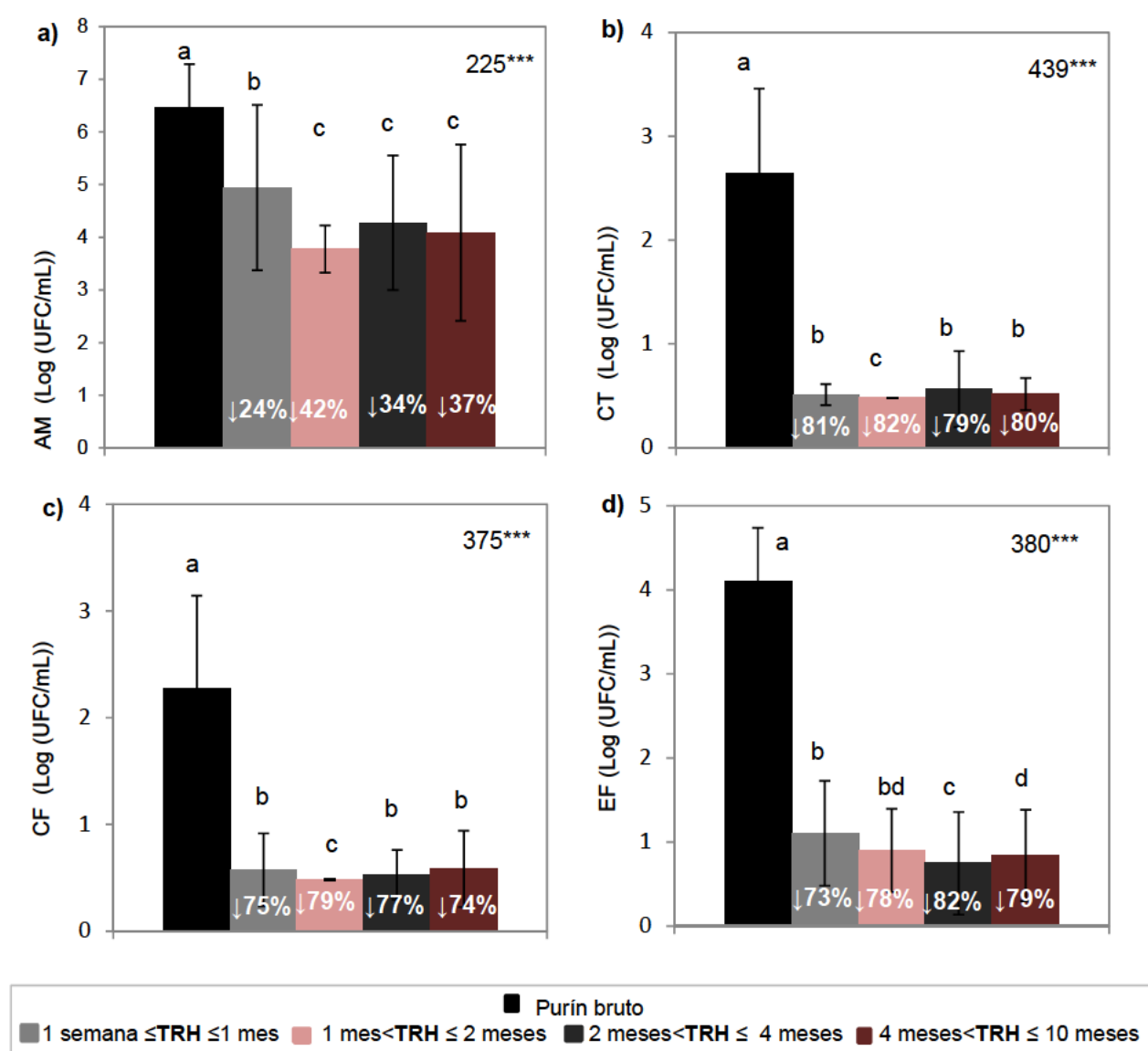


Figura IV.4.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras de purín bruto y de las muestras a la salida de los humedales según el correspondiente tiempo de retención hidráulica. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican un aumento o disminución respecto al purín bruto.

Finalmente, la eficiencia de eliminación de bacterias fecales en los humedales artificiales es excelente, superando generalmente el 95% en la mayor parte de estudios, valores mayores a los encontrados en este estudio, sin efecto directo del tiempo de retención hidráulica (Gersberg *et al.*, 1987; Haberl *et al.*, 1995; Potter y Karathanasis, 2001). Según otros investigadores las eliminaciones de patógenos son más efectivas a mayores tiempos y madurez debido al incremento de la producción de biomasa en las raíces, (Karathanasis *et al.*, 2003).

**IV.5. EFECTO CLIMÁTICO EN
LA EFICIENCIA DE LA
DEPURACIÓN DE LOS
HUMEDALES ARTIFICIALES:
ESTACIONES.**

Durante los años de estudio, la T media registrada para las distintas estaciones; primavera, verano, otoño e invierno fueron 20,9 °C, 26,6 °C, 15,0 °C y 12,3 °C, respectivamente (AEMET, 2012). La T media del efluente en primavera, verano, otoño e invierno, fueron 21,8 °C, 23,6 °C, 17,4 °C y 14,2 °C, respectivamente (Fig. IV.4.5.a). La T del humedal varió unos $\pm 0,6$ °C respecto a la atmosférica. Las precipitaciones medias registradas durante el periodo de estudio fueron 22,1 mm en primavera, 28,2 mm en verano, 31,6 mm en otoño y 33 mm en invierno, (AEMET, 2012). En cuanto a los porcentajes de humedad fueron del 49%, 53%, 57% y 57% en primavera, verano, otoño e invierno, respectivamente.

Tabla IV.5.1. Propiedades del purín a la entrada de los humedales en las diferentes estaciones.

Purín entrada al humedal	Primavera			Verano			Otoño			Invierno		
	Media	±	Desv.	Media	±	Desv.	Media	±	Desv.	Media	±	Desv.
T (°C)	20,9	±	3,9	24,6	±	3,0	15,5	±	4,5	12,7	±	3,6
Eh (mV)	-411	±	152	-398	±	175	-362	±	172	-347	±	197
pH	7,59	±	0,48	7,74	±	0,29	7,94	±	0,35	7,56	±	0,66
CE (dS/m)	10,81	±	6,68	10,17	±	5,00	8,40	±	2,11	7,06	±	1,51
STS (mg/L)	16.897	±	18.366	7.635	±	9.524	5.065	±	4.336	7.567	±	12.777
SS (mL/L)	29	±	56	37	±	50	24	±	60	56	±	193
STD (mg/L)	8.649	±	5.341	8.140	±	4.001	6.722	±	1.690	5.651	±	1.208
DBO ₅ (mg/L)	4.550	±	6.008	2.898	±	3.781	1.806	±	1.912	907	±	673
DQO (mg/L)	8.731	±	10.051	5.369	±	6.025	3.925	±	3.226	2.674	±	2.083
PT (mg/L)	143,6	±	339,9	93,4	±	209,4	218,1	±	326,1	63,1	±	112,7
Cu (mg/L)	13,92	±	14,20	13,86	±	14,20	13,88	±	16,90	13,90	±	15,00
Zn (mg/L)	13,48	±	16,14	13,36	±	13,43	13,02	±	22,24	13,41	±	10,85
NT (mg/L)	1.546,7	±	1.463,3	1.271,2	±	912,2	864,2	±	365,3	874,2	±	593,9
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	1.309,4	±	1.276,7	1.078,6	±	777,2	716,9	±	299,2	618,3	±	273,6
NO (mg/L)	368,5	±	704,5	192,6	±	215,4	151,8	±	133,0	255,9	±	392,6
NO ₃ ⁻ (mg/L)	59	±	43	114	±	154	91	±	88	70	±	105
Cl ⁻ (mg/L)	636	±	299	681	±	286	600	±	209	407	±	106
Br ⁻ (mg/L)	6,07	±	5,98	7,40	±	6,16	6,80	±	9,27	6,68	±	9,74
SO ₄ ⁻² (mg/L)	89	±	72	103	±	77	112	±	92	149	±	50
Na ⁺ (mg/L)	325	±	163	315	±	186	279	±	138	208	±	82
K ⁺ (mg/L)	1.021	±	769	1.077	±	764	860	±	562	589	±	247
Ca ⁺² (mg/L)	139	±	79	120	±	80	99	±	74	104	±	48
Mg ⁺² (mg/L)	56	±	37	66	±	55	71	±	51	65	±	46
AM (Log(UFC/mL))	5,99	±	0,61	6,18	±	0,92	5,94	±	0,90	6,02	±	0,79
CT (Log(UFC/mL))	2,18	±	0,76	2,16	±	0,97	2,32	±	0,86	2,08	±	0,65
CF (Log(UFC/mL))	1,34	±	0,62	1,39	±	0,72	1,74	±	1,06	1,32	±	0,63
EF (Log(UFC/mL))	3,64	±	0,45	3,72	±	0,73	3,73	±	0,68	3,27	±	0,53
Muestras	81			45			90			48		

En esta experiencia del total del volumen se procesaron a través de los humedales 180.920 L en primavera, 133.956 L en verano, 163.990 L en otoño y 112.992 L en invierno. El total del volumen registrado a la salida de los humedales en primavera, verano, otoño e invierno fue 110.000 L, 80.590 L, 170.769 L y 102.926 L respectivamente, suponiendo unas pérdidas de volumen del 39%, 40%, -4% y 9% respectivamente, por lo que se observa la mayor pérdida de volumen por evapotranspiración en las estaciones de primavera y verano, sin embargo en otoño se produjo un incremento del volumen (signo negativo) y ello puede deberse a que ese fue el periodo de mayor abundancia de precipitaciones.

Para el estudio comparativo de este factor climático, se ha considerado oportuno distinguir entre los valores medios de cada parámetro de las muestras de entrada al humedal por cada estación (**Tab. IV.5.1**). A diferencia de ello, en los factores previamente evaluados se ha considerado la media del conjunto de datos a la entrada del humedal durante todo el periodo de estudio ya que apenas ofrecían diferencias y de esta manera se simplificaba el estudio.

Según los resultados obtenidos (**Fig. IV.5.1-4**) todos los parámetros analizados han mostrado diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las medias del purín de entrada, y la de los efluentes de salida de humedal en las diferentes estaciones del año.

No se han encontrado diferencias significativas entre las diferentes estaciones, consiguiéndose en todas ellas elevadas eliminaciones en los siguientes parámetros: SS, con eliminaciones del 100%, el Br^- (**Fig. IV.5.3.b**) con eliminaciones de entre 46% y 87%, AM (**Fig. IV.5.4.a**) con eliminaciones de entre 20% y 31%, CT (**Fig. IV.5.4.b**) con eliminaciones de entre 72% y 78%, CF (**Fig. IV.5.4.c**) con eliminaciones de entre 53% y 66%, EF (**Fig. IV.5.4.d**) con eliminaciones de entre 67% y 74%, y finalmente *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* resultando 100% negativas. Por el contrario, en los humedales los NO_3^- han experimentado un ascenso (25%-80%) en todas las estaciones sin diferencias significativas entre ellas.

Las variaciones de T (**Fig. IV.5.1.a**) del efluente observadas con respecto al de entrada al humedal han sido ascensos del 4%, 11% y 10% en primavera, otoño e invierno, respectivamente y un descenso del 4% en verano. Realmente, el humedal artificial mantiene prácticamente en el agua residual la T del aire (Knight *et al.*, 2000). Además, el medio poroso y las raíces de los macrófitos mantienen la T del agua mayor que la del aire en invierno, permitiendo una mayor actividad microbiana, y por tanto, favoreciendo una degradación de compuestos orgánicos más activa (Hiley, 2003).

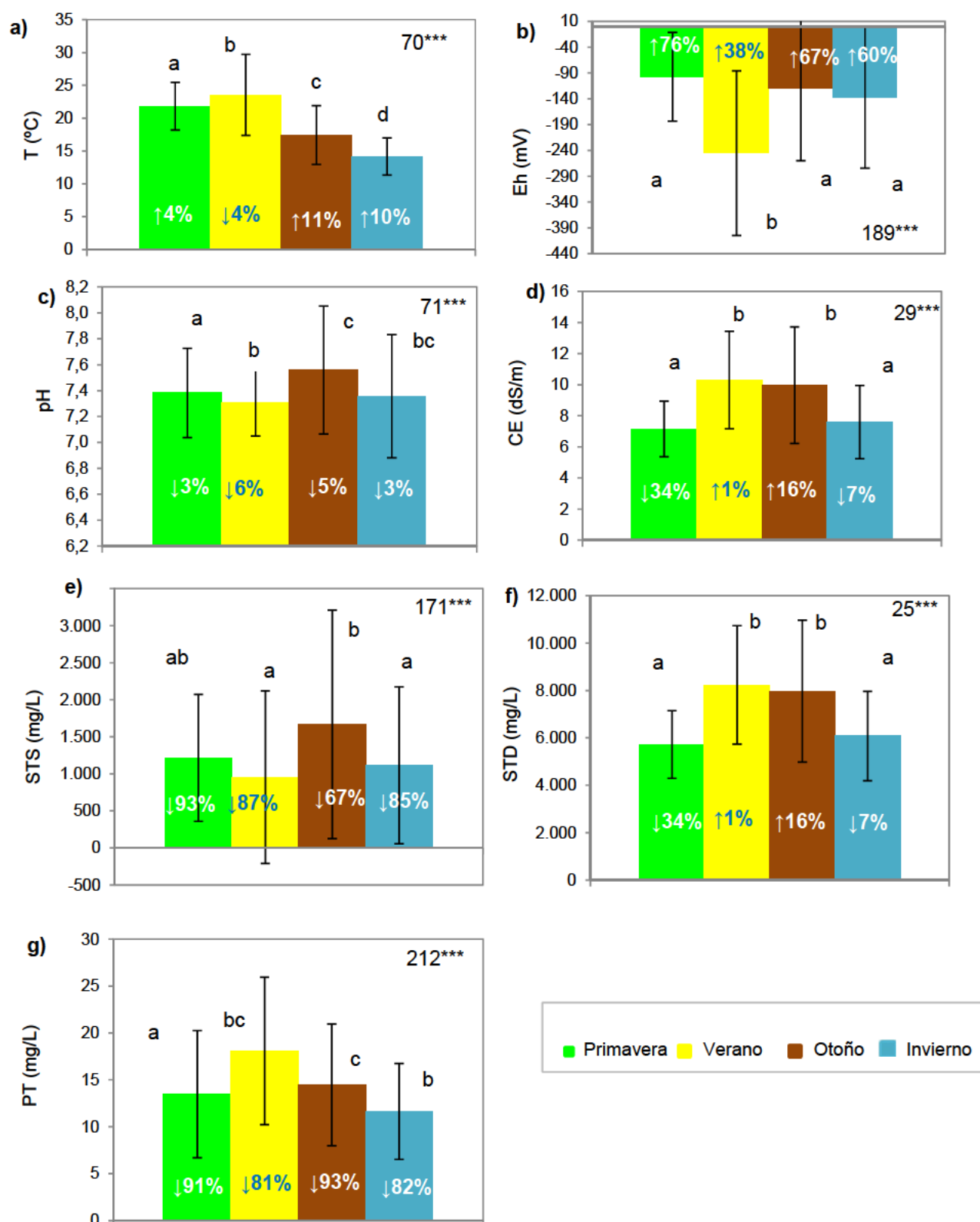


Figura IV.5.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, SS, STD y PT de las muestras a la salida de los humedales en las distintas estaciones. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

En cuanto al Eh (**Fig. IV.5.1.b**), en todas las estaciones se ha experimentado un aumento respecto al purín de entrada haciéndose menos negativo, no observándose diferencias significativas entre las estaciones de otoño, invierno y primavera con aumentos de entre el 60% y 76%. Sin embargo, sí observamos diferencias significativas con respecto a las encontradas en la estación del verano resultando un menor aumento (38%).

El pH (**Fig. IV.5.1.c**) disminuyó tras su paso por los humedales mostrando un menor y significativo descenso (3%) en invierno y primavera respecto al resto de estaciones, 5% en otoño y 6% en verano.

Con respecto a la CE (**Fig. IV.5.1.d**), fue en primavera cuando se produjo un descenso del 34% mientras que en el resto de estaciones aumentó. Análogamente sucedió para el caso de STD.

En cuanto a los STS (**Fig. IV.5.1.e**) se observaron elevadas disminuciones en todas las estaciones mostrándose las mayores y significativas en invierno, primavera y verano con un rango entre 85% y 93%, en comparación al otoño (67%). Sin embargo los sólidos totales en disolución disminuyeron en invierno (17%) y primavera (22%) sin diferencias significativas entre ellas, mientras que en verano y otoño aumentaron 11% y 18% respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas pero con diferencias significativas con respecto a las dos estaciones anteriores.

En primavera es cuando se obtienen los mayores y significativos descensos de DBO₅ (**Fig. IV.5.2.b**), DQO (**Fig. IV.5.2.a**) y PT (**Fig. IV.5.1.g**), siendo del 91%, 90%, 91%, respectivamente. Las estaciones de primavera y verano han permitido las mayores y significativas disminuciones para el caso de Cu (79%-88%; **Fig. IV.5.2.g**). Las estaciones de invierno, primavera y verano han permitido las mayores y significativas disminuciones para el caso de Zn (81%- 94%; **Fig. IV.5.2.h**).

Para el caso del NT (**Fig. IV.5.2.c**), N-NH₄⁺ (**Fig. IV.5.2.d**) y NO (**Fig. IV.5.2.e**), en primavera se obtuvieron las mayores reducciones en sus concentraciones, siendo del 70%, 71% y 74%, respectivamente.

Diferentes estudios han mostrado que la eliminación del PT y NT es altamente dependiente de la T demostrando una mayor eficiencia en la eliminación de estos nutrientes a T superiores a 15°C (Reed *et al.*, 1995; Vymazal, 1999; Newman *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2001; Vymazal, 2002; Al-Omari y Fayyad, 2003; Kuschik *et al.*, 2003; Jing y Lin, 2004; Akrotos y Tsihrintzis, 2007).

La concentración de metales se elimina en los humedales artificiales por precipitación química, intercambio catiónico y adsorción a arcillas y otros compuestos orgánicos e inorgánicos (Martin y Johnson, 1995), además de por absorción por parte de la planta (la fracción soluble) siendo mayor su eliminaciones en las épocas de mayor desarrollo de la planta como la primavera (Keller *et al.*, 1998; Windham *et al.*, 2003; Soudek *et al.*, 2004; Vandecasteele *et al.*, 2005).

En cuanto a los iones (**Fig. IV.5.3.**) todos ellos han experimentado aumentos en la mayoría de las estaciones excepto el Ca^{+2} (**Fig. IV.5.3.f**), el cual ha logrado de forma significativa el mayor descenso en verano (56%), resultados similares a los obtenidos por Drizo *et al.* (1999).

El Cl^- (**Fig. IV.5.3.a**) experimentó un significativo descenso en primavera (17%) mientras que aumentó de forma significativa en otoño e invierno, coincidiendo con la época de mayor abundancia en precipitaciones en este estudio. El SO_4^{-2} (**Fig. IV.5.3.c**) experimentó un significativo descenso en verano (4%) mientras que en el resto de estaciones aumentó. El Na^+ (**Fig. IV.5.3.d**) se mantuvo constante en primavera aumentando de forma progresiva en el resto de estaciones. El K^+ (**Fig. IV.5.3.e**) experimentó el mayor y significativo descenso en primavera (17%) y al igual que el Na^+ fue aumentando en las siguientes estaciones de forma progresiva. Y finalmente el Mg^{+2} (**Fig. IV.5.3.g**) aumentó en todas las estaciones, experimentó el menor y significativo aumento en primavera (33%) y verano (27%) y el mayor en otoño (43%) e invierno (42%).

Se han encontrado varios estudios de humedales artificiales de flujo superficial sin diferencias significativas entre las estaciones, (Gersberg *et al.*, 1984b; Cooper y Boon, 1987; Kadlec, 1987; Watson *et al.*, 1987; Wolverton, 1987; Gray *et al.*, 1990; Pride *et al.*, 1990; Bhamidimarri *et al.*, 1991; Biddlestone *et al.*, 1991; Crumpton *et al.*, 1993; Gearheart y Higley, 1993; Hammer *et al.*, 1993; Higgins *et al.*, 1993; Terry, 1993; Watson y Danzig, 1993; Brenton, 1994; Green y Upton, 1994; Holmes *et al.*, 1994; Hunt *et al.*, 1994; Reaves *et al.*, 1994; Skarda *et al.*, 1994; Zimmerman, 1994; Juwarkar *et al.*, 1995).

Algunos autores (Christos *et al.*, 2007), no observaron diferencias significativas a lo largo del año para la CE y el pH. Kadlec y Knight, 1996 encontraron que el pH mostraba una tendencia a mantenerse neutro, o ligeramente ácido probablemente debido a las interacciones entre el sustrato y el biofilm. Según estos autores estas interacciones con el sustrato podrían resultar una liberación de sales del medio al agua, explicando el ligero incremento de conductividad a lo largo del humedal artificial, (Kadlec y Knight, 1996).

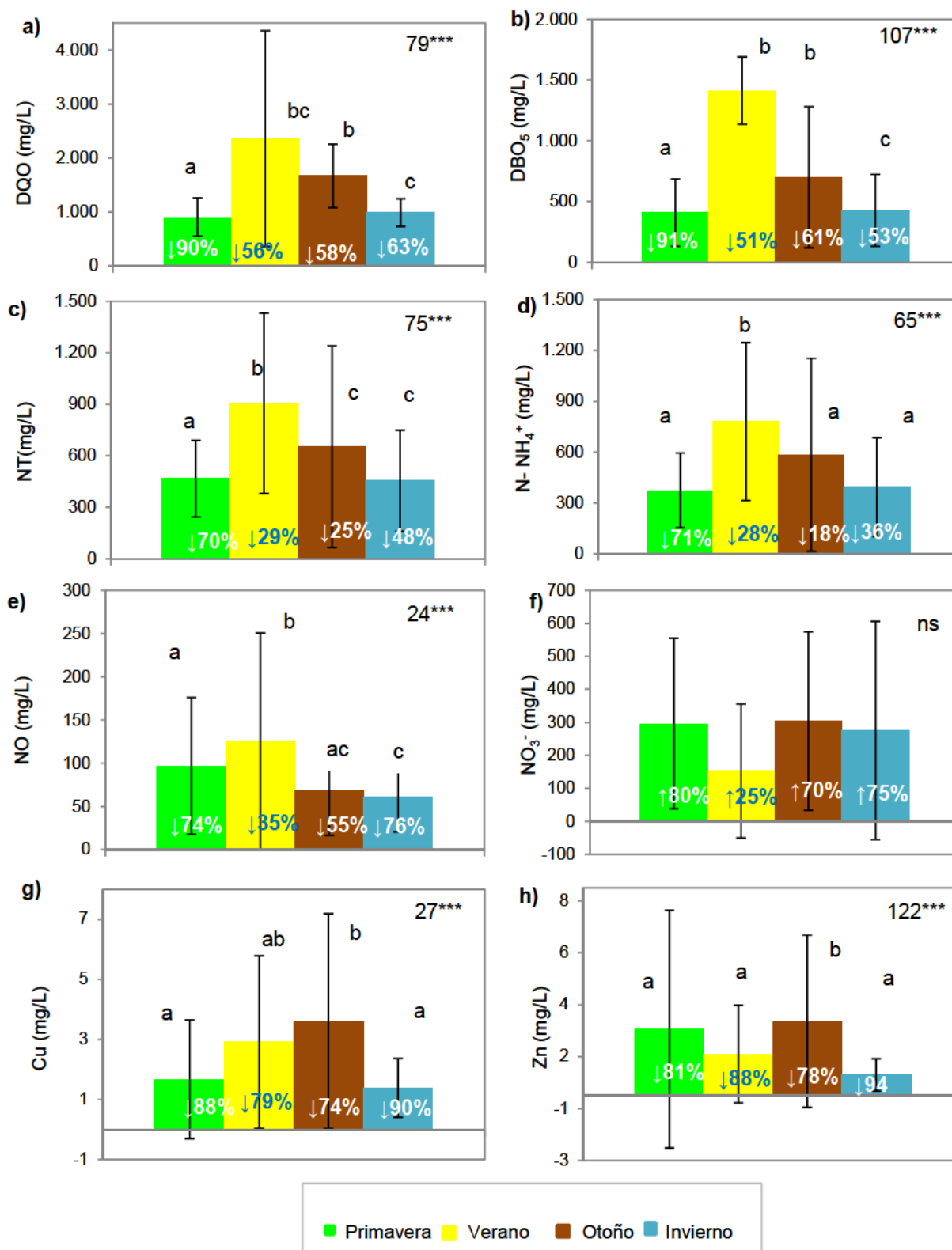


Figura IV.5.2. Valores promedio de DQO, DBO₅, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cu y Zn de las muestras a la salida de los humedales en las distintas estaciones. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Chi²*** indica diferencias significativas a $P < 0.001$; ns = no significativo. Los porcentajes indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Steinmann *et al.* (2003) observaron que la dependencia de la T no fue significativa para parámetros como DBO₅ y DQO, lo que implica que la eliminación de la materia orgánica es mayormente un resultado de la actividad microbiológica de bacterias aeróbicas y anaeróbicas (Greenway y Woolley, 1999; Steer *et al.*, 2002; Vymazal, 2002), que funcionan incluso a T tan bajas como 5 °C.

El medio poroso y las raíces de las plantas mantienen la T del agua residual en invierno por encima de la T del aire entre 2 y 3 °C, permitiendo por tanto la actividad microbiológica en invierno en funcionamiento continuo (Hiley, 2003). Christos *et al.* (2007) observaron que la DBO₅ y DQO no mostraron diferencias significativas, y que a T por debajo de 15 °C se observaron eliminaciones del 85,2% y 87%, respectivamente, y por encima de 15 °C, eliminaciones del 90,5% y 90,8%. Watson *et al.* (1987) no encontraron diferencias significativas para la DBO₅ y para los STS. Herskowitz *et al.* (1987) no observaron diferencias significativas entre las estaciones para CF, STS y DBO₅ en humedales para el tratamiento de aguas residuales municipales.

Los datos de eliminaciones de NT son muy heterogéneos y se describen en la mayoría de las plantas independientemente de las estaciones (Hammer y Knight, 1994; Reed y Brown, 1992). Maehlum y Stalnacke (1999) encontraron diferencias en las eliminaciones de menos del 10% entre la estación fría y templada. También otros autores describieron altas eliminaciones de NT del 40-97% y no encontraron una correlación entre la eficiencia de depuración y la temperatura estacional (Geller, 1997).

En general, los humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales tienen que ser evaluados como ecosistemas que funcionan con energía solar (Kadlec, 1999). Las eficiencias de eliminación deberían ser afectadas en un modo complejo por los ciclos anuales de numerosos parámetros, tales como T del aire, radiación solar (anual y diurna), humedad, precipitación, concentración de contaminantes y vegetación (Kadlec, 1999).

Estos parámetros causan cambios en el suministro de nutrientes, asimilación o liberación de sustancias químicas y actividades biológicas de microorganismos y de plantas (Kadlec, 1999). Kadlec (1999) también demostró que la T del agua de los humedales no es el único parámetro que influye en las eficiencias de eliminación.

La nitrificación es más sensible a la T en medios más fríos (<15 °C), y menos sensible a T más altas (Kadlec y Reddy, 2001). Sin embargo, si el flujo de entrada y las concentraciones de entrada al humedal también varían estacionalmente, su influencia será confusa con el efecto de T (IWA, 2000).

La diferencia de T entre las estaciones tiene varios impactos, ya que tanto el ciclo del nitrógeno (Kadlec y Knight, 1996) y la adsorción de fósforo (Nichols, 1983) son dependientes de la T. Las variaciones estacionales en la eficiencia de eliminación de la DBO₅ se diferencian según el tipo de macrófitos empleados en el humedal y en todos ellos se observa un deterioro de depuración en los humedales en los últimos meses del invierno (Kuehn y Moore, 1995; Leonard, 2000). Sin embargo, la pobre eficacia de los humedales artificiales en invierno puede deberse no solo a las frías T sino a la combinación del efecto de la carga hidráulica, pues otros estudios no han encontrado diferencias significativas entre el invierno y el verano (Watson *et al.*, 1987; Brown y Reed, 1994; Neralla *et al.*, 2000).

El N-NH₄⁺ en un humedal artificial se elimina por volatilización, adsorción, asimilación de la planta y nitrificación (IWA, 2000). Las pérdidas de N-NH₄⁺ son insignificantes cuando el pH está por debajo de 9,3 (IWA, 2000). El N-NH₄⁺ podría ser adsorbido en los sedimentos o matriz de los humedales, sin embargo, tal eliminación no se considera por ser un sumidero a largo plazo, porque el N-NH₄⁺ adsorbido se libera fácilmente cuando las condiciones químicas del agua cambian (Kadlec y Knight, 1996).

Además, el nitrógeno podría también asimilarse por las plantas, pero volviéndose a liberar al agua después del proceso de descomposición, cuando las plantas no se podan. Consecuentemente, la nitrificación juega un papel importante en la eliminación de N-NH₄⁺ a largo plazo. Por lo tanto, la pequeña acumulación de óxidos de nitrógeno asociados con la reducción de N-NH₄⁺ puede sugerir que una desnitrificación se está llevando a cabo.

Mander *et al.* (2000) presentaron eficiencias de eliminación de NT que variaron entre el 12% y el 85%, y durante la estación fría no se mostraron descensos. Otros autores también demuestran que existen diferencias significativas en las eficiencias de depuración entre las estaciones, principalmente debido al cambio de la T (Del Bubba *et al.*, 2000; Kadlec, 1999; Spieles y Mitsch, 2000).

En principio, los resultados obtenidos por Kuschik *et al.* (2003) demuestran el efecto de los cambios de T estacionales en los porcentajes de eliminación de nitrógeno en los humedales artificiales en un clima moderado. El porcentaje de eliminación de N-NH₄⁺ a principio de enero, por ejemplo fue sólo del 13% del porcentaje máximo medido en la segunda mitad de agosto. Watson *et al.* (1987) encontraron porcentajes de reducción de N-NH₄⁺ y PT más bajos en invierno.

Los sistemas que tratan aguas residuales domésticas algunas veces tienen porcentajes más altos (Geller, 1997; Maehlum y Stalnacke, 1999) que podría deberse a una T más alta de estas aguas procedentes de casas próximas. Las oscilaciones de los porcentajes de eliminación en general, que muestran varios extremos, sugiere efectos específicos estacionales causados por la dinámica de la fisiología de la planta. En primavera y otoño las eficiencias de eliminación que se obtuvieron en algunos estudios (Kuschik *et al.*, 2003) fueron dependientes de la carga de nitrógeno de forma lineal, y las eficiencias en invierno y verano fueron extremadamente diferentes; los porcentajes medios de eliminación de NT ((11%-53%) en enero-agosto) fueron independientes de la carga de nitrógeno en principio. Las oscilaciones de los porcentajes de eliminación en primavera, que muestran varias máximas, sugiere efectos específicos estacionales causados por la dinámica de la fisiología de la planta, determinando la eficiencia de nitrificación, por ejemplo vía suministro de oxígeno.

Kuschik *et al.* (2003) encontraron que la nitrificación estaba limitada por la T durante todas las estaciones y, sorprendentemente en la mitad del verano, además restringido por otros aspectos estacionales formando un relativo claro corte de mínimo de nitrificación (porcentaje medio 32%) en julio. La importancia y el efecto del intercambio de gas de la planta y el oxígeno que entra en la rizosfera son objeto de discusión. Estos autores también observaron que la desnitrificación fue casi completa en la mitad del verano y claramente restringida a T estacionales inferiores a 15 °C. En el estudio elaborado por Christos *et al.* (2007), todas las eficiencias de eliminación de contaminantes tales como DBO₅, DQO, NT, N-NH₄⁺, PT, y NO₃⁻ mostraron una dependencia con la T, observándose una eficiencia de eliminación aceptable de todo ellos a T superiores a los 15 °C; pero al contrario que la DBO₅ y DQO, el NT mostró variaciones significativas durante los periodos de operación. Estas variaciones suceden porque las bacterias y las plantas responsables de la eliminación de nitrógeno son menos eficientes a bajas temperaturas.

La nitrificación es un proceso de respiración de bacterias en dos pasos consecutivos que se lleva a cabo por bacterias oxidantes de amonio (BOA) y bacterias oxidantes de nitrito, respectivamente. Las actividades nitrificadoras están consideradas como el principal mecanismo del nitrógeno en los humedales artificiales. Muchas especies de bacterias nitrificadoras contribuyen al proceso de nitrificación. Las bacterias oxidantes de amonio se conocen por estar presentes en todos los humedales artificiales y ser los miembros dominantes de la comunidad microbiológica de la rizosfera. Estos procesos son dependientes de la T y el pH (EPA, 1993).

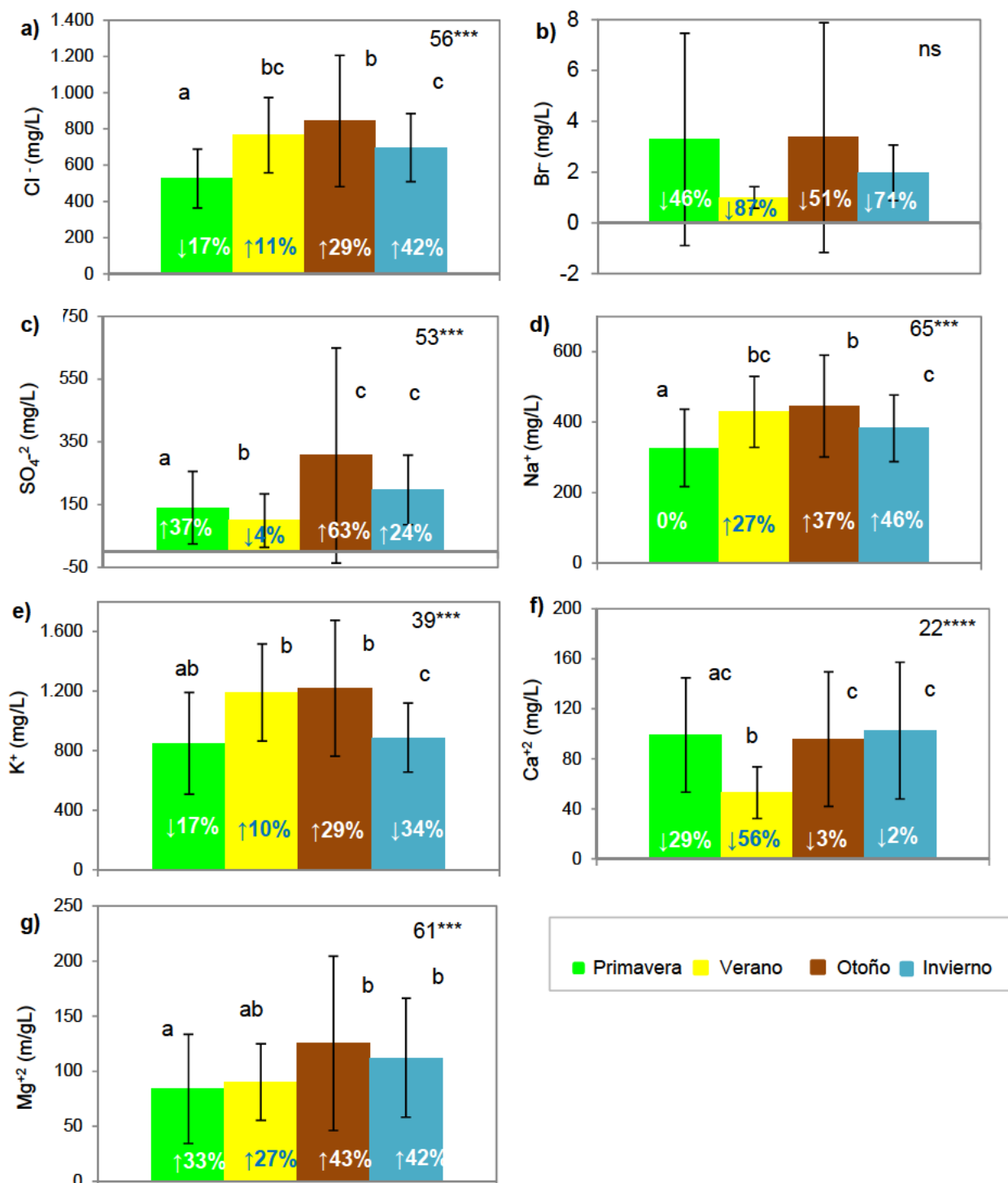


Figura IV.5.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}) de las muestras a la salida de los humedales en las distintas estaciones. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en valor absoluto indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales.

Tres posibles fuentes de oxígeno disuelto en humedales artificiales incluyen aireación superficial, fotosíntesis y transferencias de oxígeno en planta. La actividad de los nitrificadores recuerda a los biofilms asociados a las plantas acuáticas de la rizosfera (Williams *et al.*, 1994). La rizosfera es un hábitat apropiado para los nitrificadores. Las raíces liberan oxígeno estimulando la nitrificación.

Algunos autores (Aldén *et al.*, 2001; Fierer *et al.*, 2003) mostraron que el bajo valor de Eh fue un importante factor limitante del crecimiento de las bacterias oxidantes de amonio en el suelo.

Brix (1994) estableció que la nitrificación puede estar limitada por los cambios de estación debido al amplio rango de oxígeno liberado por la *P. australis*, (0,02–12 g/m²/día). Específicamente, en la nitrificación se requieren 4,3 g de oxígeno por gramo de N-NH₄⁺, para su transformación a NO₃⁻. En algunos casos por ejemplo en la estación seca, las plantas no disponen de oxígeno suficiente para que la nitrificación sea completa. Por el contrario, concentraciones bajas de efluente en N-NH₄⁺, NO₂⁻ y NO₃⁻ indica que no sólo se dio una nitrificación sino que también tuvo lugar una importante desnitrificación (Christos *et al.*, 2007). Christos *et al.* (2007) sí que observaron diferencias significativas de oxígeno disuelto durante las diferentes estaciones, con los valores más altos de oxígeno durante el invierno, cuando la solubilidad del agua es más alta, y los valores más bajos durante el verano. Se puede observar que generalmente para todos los contaminantes, las eficiencias de eliminación más bajas corresponden a T más bajas y viceversa.

La dependencia de la T sobre la eficiencia de eliminación de NT y N-NH₄⁺, es mucho más significativa, porque la asimilación de nutrientes por parte de la planta juega una importante función en la eliminación del nitrógeno (Reed *et al.*, 1995; Newman *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2001; Vymazal, 2002; Kuschik *et al.*, 2003; Al-Omari y Fayyad, 2003; Jing y Lin, 2004), y los microorganismos responsables de la eliminación del nitrógeno funcionan óptimamente a temperaturas por encima de los 15 °C (Vymazal, 1999; Kuschik *et al.*, 2003).

En un estudio sobre depuración de aguas residuales procedentes de granjas, Mustafaa *et al.* (2009) usaron varios humedales integrados y las mayores eficiencias de N-NH₄⁺ se obtuvieron en primavera (99,4%) y verano (99,7%), y las más bajas en otoño (98,7%) e invierno (99,3%).

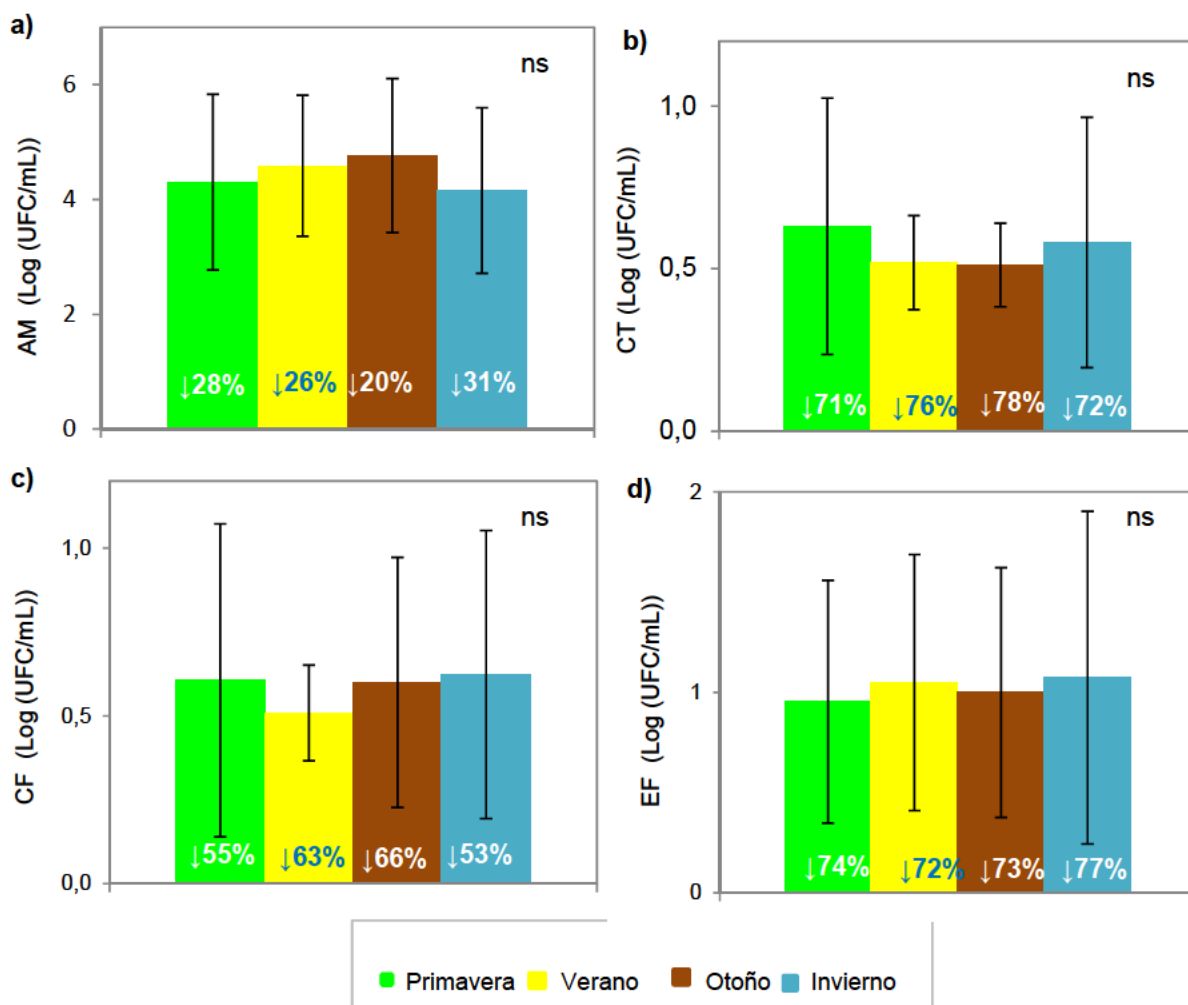


Figura IV.5.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras a la salida de los humedales en las diferentes estaciones. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Porcentajes de aumento o disminución respecto al purín bruto.

Christos *et al.* (2007) mostraron las mayores reducciones en NT y N-NH_4 a temperatura por encima de los 15 °C, encontrándose que a T por debajo de 15 °C las eliminaciones de NT y N-NH_4^+ , fueron del 58,5% y 37,9%, respectivamente, y a T por encima de 15 °C de 73,9% y 69,1%.

De forma análoga, el PT presentó en este mismo estudio (Christos *et al.*, 2007), una dependencia similar a la del nitrógeno con la T, causado por la descomposición de la planta y retorno del fósforo inorgánico al humedal, y por la liberación de fosfato de los precipitados (Kadlec y Knight, 1996), encontrándose que a T por debajo de los 15 °C la eficiencia de eliminación de PT era de 41,8%, mientras que por encima de este valor era del 70,1%.

La adsorción de PT en el sustrato no suele estar correlaciona con la T debido a su extrema sensibilidad a las condiciones redox (Nichols, 1983). En dos estudios sobre aguas residuales de origen agrícola, Zimmerman (1994) obtuvo menos reducción de concentraciones de PT de diciembre a marzo (1994), mientras que Reaves *et al.* (1994) observó que la menor reducción de PT se dio durante el invierno. En otros estudios la eliminación de PT también muestra una dependencia con la T (Christos *et al.*, 2007). Las variaciones estacionales y los aumentos de PT que se producen en el humedal se podrían explicar por el hecho de que durante el invierno la biomasa microbiológica y residuos se descomponen y el fósforo se libera de los precipitados (Kadlec y Knight, 1996), resultando un aumento de solubilidad del fósforo en el agua.

Los humedales artificiales han sido utilizados para el tratamiento de aguas residuales en climas templados y su funcionamiento en climas fríos ha sido cuestionado. Newman *et al.* (2000), en un estudio de clima frío, observaron que los porcentajes de eliminación fueron significativamente más grandes ($P < 0,05$) durante el verano que durante el invierno para los parámetros medidos, sin diferencias significativas entre estaciones para los CF. Concretamente, encontraron los siguientes porcentajes de eliminación para las siguientes variables: 55% en verano y 29% en invierno para el NT, 31% en verano y 7% en invierno para el N-NH_4^+ , 70% en verano y 54% en invierno para NO_3^- , 68% en verano y 54% en invierno para STS, 79% en verano y 33% en invierno para la DBO_5 y 78% en verano y 63% en invierno para CF.

Karathanasis *et al.* (2003) encontraron diferencias significativas en el porcentaje de eliminación de EF entre las estaciones. Los sistemas policultivados permitieron la mejor eliminación de estos patógenos en los meses cálidos, mientras que los sistemas con *Festuca sp* tuvieron un funcionamiento más pobre a lo largo de todas las estaciones con porcentajes entre el 80 y 86%, excepto en primavera que alcanzaron el 95%. Se dio el caso que la eliminación de EF fue la mejor para los humedales sin planta en los meses del invierno.

Merlin *et al.* (2002) observaron efectos estacionales durante los meses más fríos y calurosos del año, cuando las eficiencias de eliminación de las bacterias patógenas disminuyeron considerablemente como resultado de una intensa evapotranspiración o reducción de la actividad metabólica de microbios depredadores.

Por otro lado, Karathanasis *et al.*, 2003 encontraron diferencias significativas entre las estaciones en los humedales con planta mostrando mejor porcentajes de eliminación de contaminantes en sistemas policultivados durante los meses más templados del año y en los humedales sin planta durante los meses del invierno.

Merlin *et al.* (2002) atribuyeron las eliminaciones más bajas de CF durante el invierno en los sistemas con vegetación a la baja actividad metabólica y reducciones significativas en las poblaciones de microbios depredadores resultado de periodos prolongados de T menores a 3°C.

Por tanto, en esta tesis se observó que en primavera se obtuvieron las mejores eficiencias de la mayoría de parámetros analizados en el purín coincidiendo con diferentes estudios anteriormente mencionados que demostraron una mayor eficiencia en la eliminación de estos nutrientes a temperaturas superiores a 15°C, siendo además la estación con mayor actividad biológica por mayor desarrollo de la vegetación, con menos tasas de evapotranspiración que en verano.

**IV.6. EFECTO DE LA
LONGEVIDAD EN LA
EFICIENCIA DE LA
DEPURACIÓN DE LOS
HUMEDALES ARTIFICIALES.**

En la presente experiencia el llenado y vaciado de los humedales tuvo su inicio el 8 de mayo de 2006 y su finalización el 14 de diciembre de 2010. En esta experiencia del total del volumen procesado 130.253 L se procesaron a través de los humedales en 2006, 139.000 L en 2007, 147.514 L en 2008, 114.304 L en 2009 y 64.206 L en 2010. El total del volumen registrado a la salida de los humedales en 2006, 2007, 2008, 2009 y 2010 fue 119.685 L, 118.616 L, 114.656 L, 84.741 L y 28.808 L respectivamente, suponiendo unas pérdidas de volumen del 8%, 15%, 22%, 26% y 55% respectivamente por lo que se observa un aumento progresivo a lo largo del tiempo de la pérdida de volumen por evapotranspiración debido mayoritariamente a que los macrófitos iban creciendo.

Tabla IV.6.1. Propiedades del purín a la entrada de los humedales en los diferentes años.

Purín entrada al humedal	2006			2007			2008			2009			2010		
	Media	±	Desv.	Media	±	Desv.	Media	±	Desv.	Media	±	Desv.	Media	±	Desv.
T (°C)	18,9	±	2,8	21,5	±	5,9	15,5	±	5,3	18,8	±	7,0	19,3	±	6,7
Eh (mV)	-539	±	41	-535	±	41	-300	±	107	-184	±	102	-216	±	130
pH	7,74	±	0,43	7,21	±	0,52	7,95	±	0,30	7,96	±	0,11	8,00	±	0,19
CE (dS/m)	10,59	±	3,54	12,54	±	6,57	6,12	±	1,11	6,96	±	1,23	7,31	±	2,24
STS (mg/L)	6.031	±	3.527	24.768	±	17.151	3.350	±	6.003	2.978	±	1.485	6.192	±	8.176
SS (mL/L)	35	±	73	97	±	215	22	±	59	8	±	12	15	±	21
STD (mg/L)	8.473	±	2.831	10.032	±	5.257	4.892	±	890	5.566	±	982	5.849	±	1.792
DBO ₅ (mg/L)	3.945	±	2.971	5.626	±	5.832	624	±	359	686	±	418	510	±	358
DQO (mg/L)	6.574	±	4.951	9.377	±	9.721	781	±	449	3.181	±	1.802	4.773	±	4.718
PT (mg/L)	63,1	±	26,0	40,0	±	15,6	18,3	±	4,0	84,1	±	131,2	547,0	±	469,3
Cu (mg/L)	13,84	±	12,25	13,75	±	12,75	13,89	±	10,05	13,89	±	10,38	10,74	±	11,39
Zn (mg/L)	13,23	±	12,13	13,23	±	13,76	13,23	±	10,45	13,23	±	13,52	10,29	±	9,84
NT (mg/L)	1.077,9	±	518,9	2.335,4	±	1.250,3	527,6	±	121,8	649,7	±	249,8	761,9	±	497,9
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	853,4	±	413,0	1.921,5	±	1.175,4	479,2	±	98,4	540,9	±	197,5	591,3	±	351,5
NO (mg/L)	231,0	±	174,0	509,4	±	667,0	48,4	±	63,6	108,8	±	91,3	170,6	±	194,7
NO ₃ ⁻ (mg/L)	99	±	114	112	±	155	24	±	15	61	±	37	112	±	85
Cl ⁻ (mg/L)	702	±	134	823	±	287	385	±	121	406	±	125	491	±	217
Br ⁻ (mg/L)	0,88	±	1,72	6,69	±	4,82	0,54	±	0,66	13,36	±	7,87	16,53	±	6,52
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	161	±	46	49	±	60	115	±	83	130	±	84	121	±	65
Na ⁺ (mg/L)	380	±	56	422	±	131	203	±	83	105	±	81	207	±	138
K ⁺ (mg/L)	1.101	±	293	1.656	±	676	368	±	162	344	±	157	643	±	415
Ca ⁺² (mg/L)	47	±	52	183	±	80	142	±	58	87	±	21	97	±	26
Mg ⁺² (mg/L)	39	±	19	31	±	19	79	±	31	122	±	42	81	±	56
AM (Log(UFC/mL))	6,05	±	0,78	5,80	±	0,75	5,38	±	0,75	6,35	±	0,68	6,76	±	0,55
CT (Log(UFC/mL))	1,81	±	0,55	1,68	±	0,60	2,49	±	0,91	2,68	±	0,72	2,71	±	0,64
CF (Log(UFC/mL))	1,04	±	0,46	0,82	±	0,24	1,59	±	0,74	2,09	±	0,76	2,39	±	0,75
EF (Log(UFC/mL))	3,48	±	0,44	3,25	±	0,48	3,58	±	0,58	3,97	±	0,74	4,38	±	0,45
Muestras	54			60			51			51			48		

Para el estudio comparativo de este factor de longevidad, se ha considerado oportuno distinguir entre los valores medios de cada parámetro de las muestras de entrada al humedal por cada año (**Tab. IV.6.1.**) debido a las posibles variaciones. Por tanto, se ha comparado el valor de cada parámetro en el purín de entrada en cada año con el de salida del sistema de depuración.

No se han encontrado diferencias significativas entre los valores medios en los diferentes años de estudio en la T (**Fig. IV.6.1.a**) (aumentos de 9% y descensos de 12%), SS (descensos de 100%), PT (**Fig. IV.6.1.g**) (descensos de 97%-65%, semejantes a los estudios de otros autores ([Drizo et al., 1997](#))), Cl⁻ (**Fig. IV.6.3.a**) (aumentos de 5%-42% y disminución del 15% el segundo año de funcionamiento), Na⁺ (**Fig. IV.6.3.d**) (aumentos de 10%-73% y disminución del 9% el segundo año de funcionamiento) y finalmente *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* resultando 100% negativas.

Desde el punto de vista del factor de estudio en este capítulo de tesis estos resultados son de gran importancia, especialmente si nos fijamos en los parámetros como SS y PT, que son indicativos de la longevidad de los humedales, ya que son los causantes de la saturación y obstrucción que los humedales sufren con el paso del tiempo, como algunos investigadores estudiaron ([Tanner et al., 1998](#); [Gray et al., 2000](#); [Langergraber et al., 2003](#); [Muñoz et al., 2006](#); [Leverenz et al., 2009](#); [Torrens et al., 2009](#); [Knowles et al., 2010](#); [Pedescoll et al., 2011](#); [Nivala et al., 2012](#); [Ávila et al., 2013](#); [Le Coustumer et al., 2012](#); [Pedescoll et al., 2013](#)).

Los residuos animales normalmente contienen tanto fósforo orgánico como inorgánico. Las formas orgánicas e inorgánicas se pueden analizar juntas como PT. [Kadlec y Knight \(1996\)](#) observaron una relación entre la carga de masa de PT y la concentración a la salida del humedal, resultando que la eficacia del tratamiento para la eliminación de PT puede ser más alta durante los primeros años de operación y disminuir con la madurez del sistema.

Hay modelos matemáticos disponibles ([Nivala et al., 2012](#)) para predecir y controlar la obstrucción en los humedales artificiales. Sin embargo, para nuestro tipo de humedal artificial no son aplicables ya que como ya se ha explicado en capítulos anteriores no se ha trabajado a flujo continuo como la mayoría de los investigadores ([Tanner et al., 1998](#); [Gray et al., 2000](#); [Langergraber et al., 2003](#); [Muñoz et al., 2006](#); [Leverenz et al., 2009](#); [Torrens et al., 2009](#); [Knowles et al., 2010](#); [Pedescoll et al., 2011](#); [Nivala et al., 2012](#); [Ávila et al., 2013](#); [Le Coustumer et al., 2012](#); [Pedescoll et al., 2013](#)), sino mediante lotes de volumen medidos y rangos de TRH específicos.

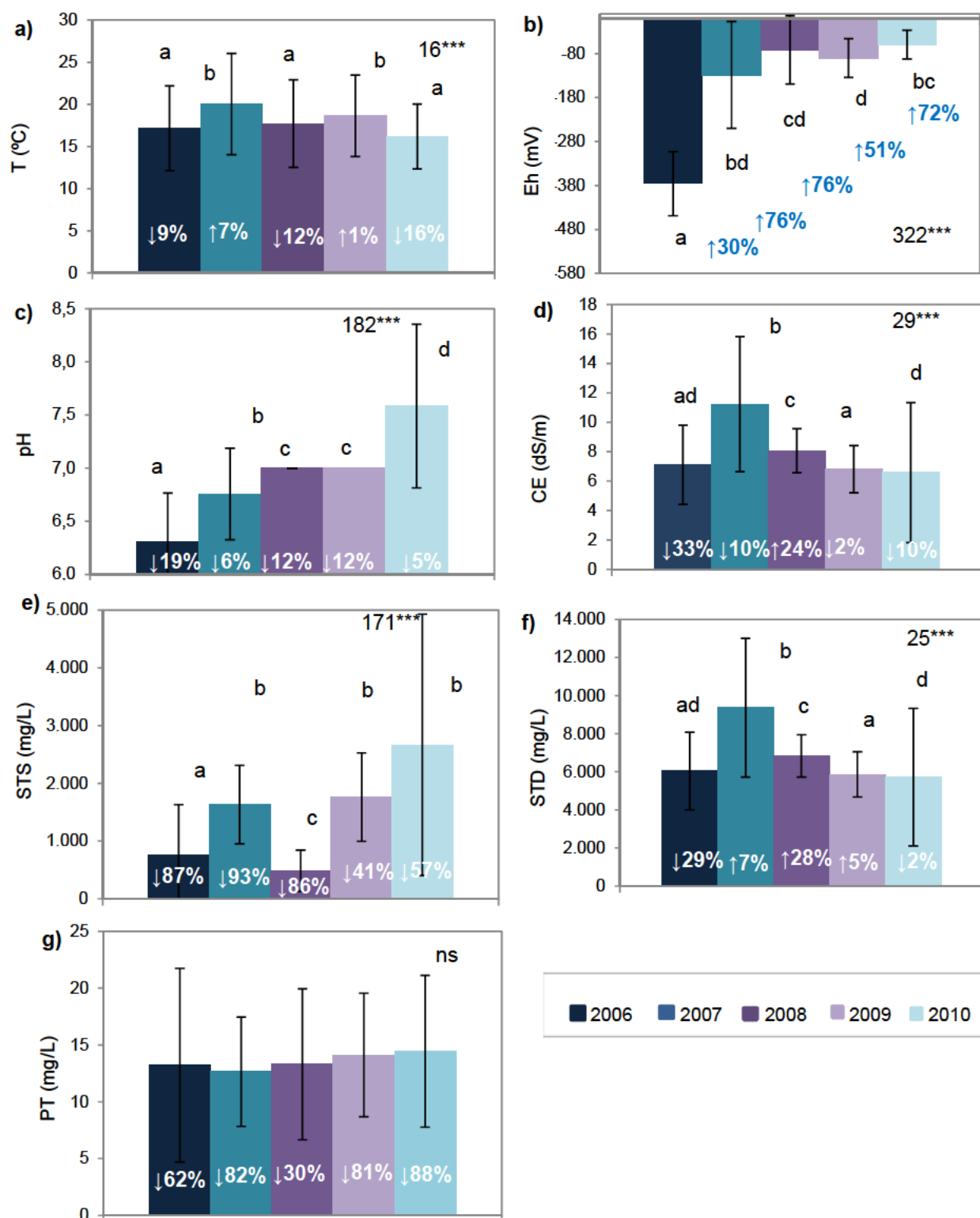


Figura IV.6.1. Valores promedio de T, Eh, pH, CE, STS, STD y PT de las muestras a la salida de los humedales, correspondientes a los distintos años. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en valor absoluto indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales durante el mismo año de estudio.

Pedescoll *et al.* (2013) concluyeron que el porcentaje de carga está relacionado con los sólidos acumulados en el humedal artificial, que la presencia de plantas implica un descenso del 20% en la conductividad hidráulica, que *Typha angustifolia* mostró un mayor efecto de obstrucción que *Phragmites australis*, y la grava del sustrato y la posición de la tubería de salida influyen significativamente en los mecanismos del flujo del efluente.

El Eh (**Fig. IV.6.1.b**) ha ido aumentando con el transcurso del tiempo haciéndose menos negativo tras su paso por el humedal, con ligeras variaciones, alcanzando el último año hasta un aumento del 72%. Ello se debe al crecimiento de las plantas que aportan una mayor cantidad de oxígeno desde las raíces a las zonas profundas del humedal. Un ambiente aeróbico por liberación de oxígeno por las raíces es un factor crítico para la depuración de la carga orgánica de las aguas residuales, sean de origen doméstico o ganadero (Tanner, 2001; Gagnon *et al.*, 2006).

Según se observa, y como también se ha comentado en otros estudios (Collins *et al.*, 2004; Lee y Scholz, 2007; Díaz *et al.*, 2010), el valor del pH disminuyó tras su paso en el humedal, encontrándose el mayor y significativo descenso (19%) para el primer año (2006); pero conforme transcurren los años este descenso se hace menor, llegando a no mostrar diferencias significativas con respecto al de entrada en el último año de estudio (2010).

La CE (**Fig. IV.6.1.d**) alcanzó en el primer año la mayor eliminación con un 33% de reducción en sus valores; en el resto de años se observaron ligeros descensos y algún aumento. De forma análoga se comportaron los STD (**Fig. IV. 6.1.f**). Con el transcurso de los años se observaron unas elevadas eficiencias de reducción de DQO (**Fig. IV.6.2.a**), DBO₅ (**Fig. IV.6.2.b**), NT (**Fig. IV.6.2.c**), N-NH₄⁺ (**Fig. IV.6.2.d**) y NO (**Fig. IV.6.2.e**), alcanzando unos descensos en sus concentraciones en el último año del 76%, 88%, 77%, 84% y 53%, respectivamente. Estos resultados apoyan los obtenidos por otros autores (Brix, 1994; Drizo *et al.*, 1997; Verhoeven y Meuleman, 1999; Gray *et al.*, 2000; Vymazal, 2005; Tsihrintzis *et al.*, 2007; Babatunde *et al.*, 2008).

En cuanto a los STS (**Fig. IV. 6.1.e**), se encontró que sus eficiencias fueron elevadas en los primeros años pero en los dos últimos años se encontraron eficiencias menores; resultados similares se encontraron en otros estudios (Thomas *et al.*, 1995; Tanner *et al.* 1995; Karathanasis *et al.*, 2003; Lee y Scholz, 2007).

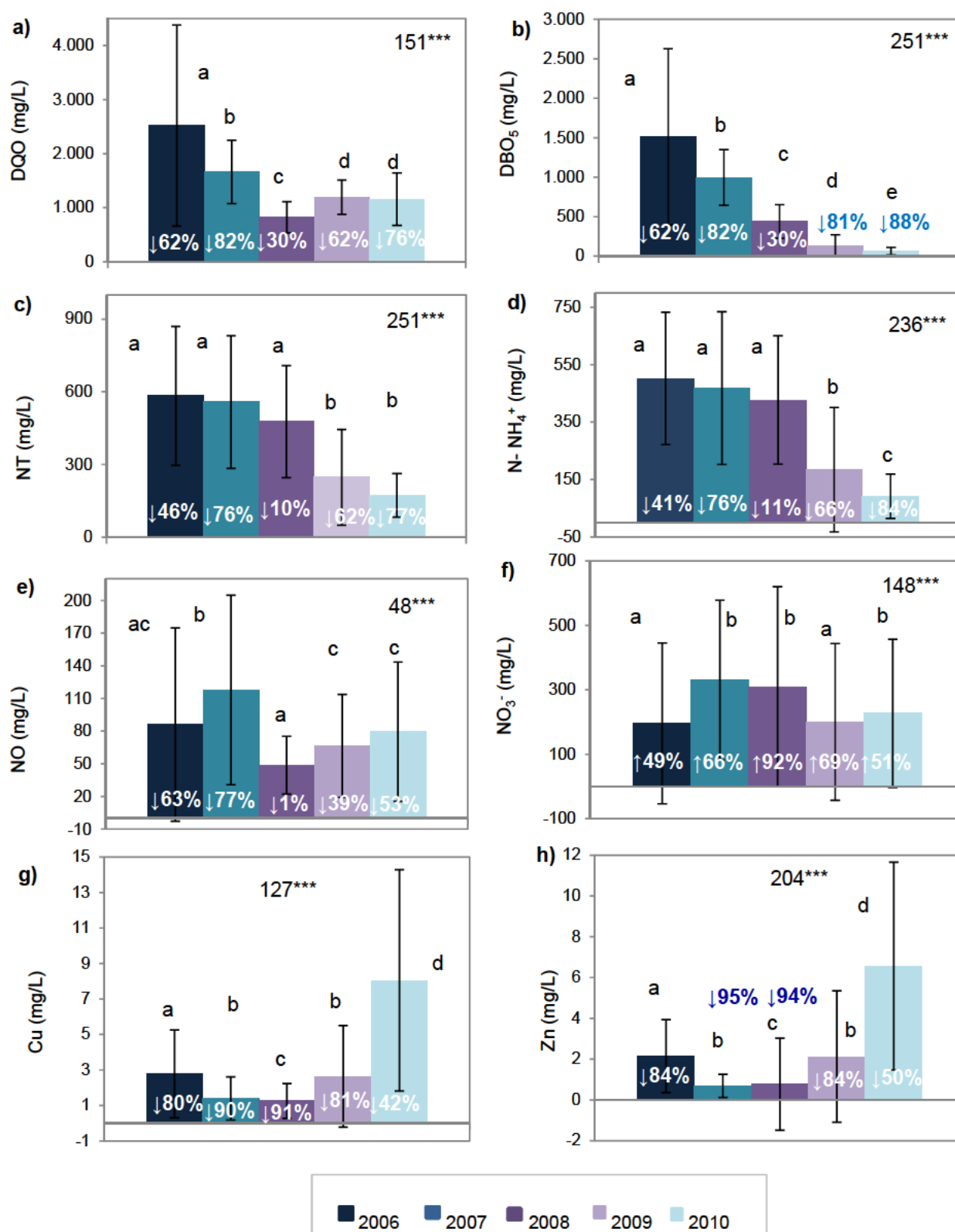


Figura IV.6.2. Valores promedio de DQO, DBO₅, NT, N-NH₄⁺, NO, NO₃⁻, Cu y Zn de las muestras a la salida de los humedales, correspondiente a los distintos años. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). Chi²*** indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en valor absoluto indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales durante el mismo año de estudio.

Para el caso del Cu (**Fig. IV.6.2.g**) y Zn (**Fig. IV.6.1.h**) se observa que sus concentraciones a la salida del humedal fueron disminuyendo en mayores porcentajes con el paso de los años; para el Cu (80%-91%) y para el Zn (84%- 95%) debido (tal como se comentó **capítulo IV.2.**) a que la mayor parte del contenido de metales se unieron al residuo mediante adsorción pasiva en superficies orgánicas o mediante mecanismos fisiológicos de colonizadores microbiológicos de residuos (Gadd, 1992, 1993; Ledin, 2000). Otros autores encontraron resultados similares (Martin y Johnson, 1995; Keller *et al.*, 1998; Windham *et al.*, 2003; Soudek *et al.*, 2004; Vandecasteele *et al.*, 2005).

Sin embargo, los residuos pueden actuar como una fuente de metal cuando la actividad microbiológica moviliza metales (Gadd, 1993) o cuando se convierten en disponibles en depósitos. Esto podría explicar el hecho de que en el último año del estudio de esta tesis la eficiencia de eliminación de metales no fuera tan alta como en los primeros años.

Los NO_3^- (**Fig. IV.6.2.f**) aumentaron todos los años de estudio a la salida del sistema de depuración, sin diferencias significativas entre las medias entre el primer y cuarto año con unos porcentajes de entre 41% y 69%. No se obtuvieron y diferencias significativas entre las medias del resto de años con unos porcentajes de entre 51% y 92%. De forma similar, Huang *et al.*, 2000 encontraron aumentos en la concentración de NO_3^- . Sin embargo, como ya se vio en capítulos anteriores, en la mayor parte de la bibliografía consultada, a diferencia del estudio de esta tesis, los niveles de NO_3^- suelen descender tras el paso del agua residual por el humedal artificial, (Drizo *et al.*, 1997; Lin *et al.*, 2002).

El Br^- (**Fig. IV.6.3.b**) presentó elevadas eliminaciones (64%-97%) en los primeros años de estudio con algunas diferencias significativas entre estos años, mostrando en el último año una menor eficiencia (41%) que el resto de años. En cuanto al SO_4^{2-} (**Fig. IV.6.3.c**) se observa que su tendencia es un aumento de su concentración con el paso de los años, encontrándose la máxima subida en el último año con un 72%. Según observamos el K^+ (**Fig. IV.6.3.e**) disminuye ligeramente los dos primeros años (16% y 23%, respectivamente) y aumenta a la salida de los humedales en los siguientes años de estudio.

El Ca^{+2} (**Fig. IV. 6.3.f**) disminuyó casi todos los años de estudio, tal y como también reportaron otros autores (Drizo *et al.*, 1999), alcanzado porcentajes de entre 34% y 65%, excepto en el primer y cuarto año; que se produce un aumento del 7% y 44%, respectivamente. Durante el periodo de estudio, el Mg^{+2} (**Fig. IV.6.3.g**) aumentó, observándose menores incrementos con el paso de los años.

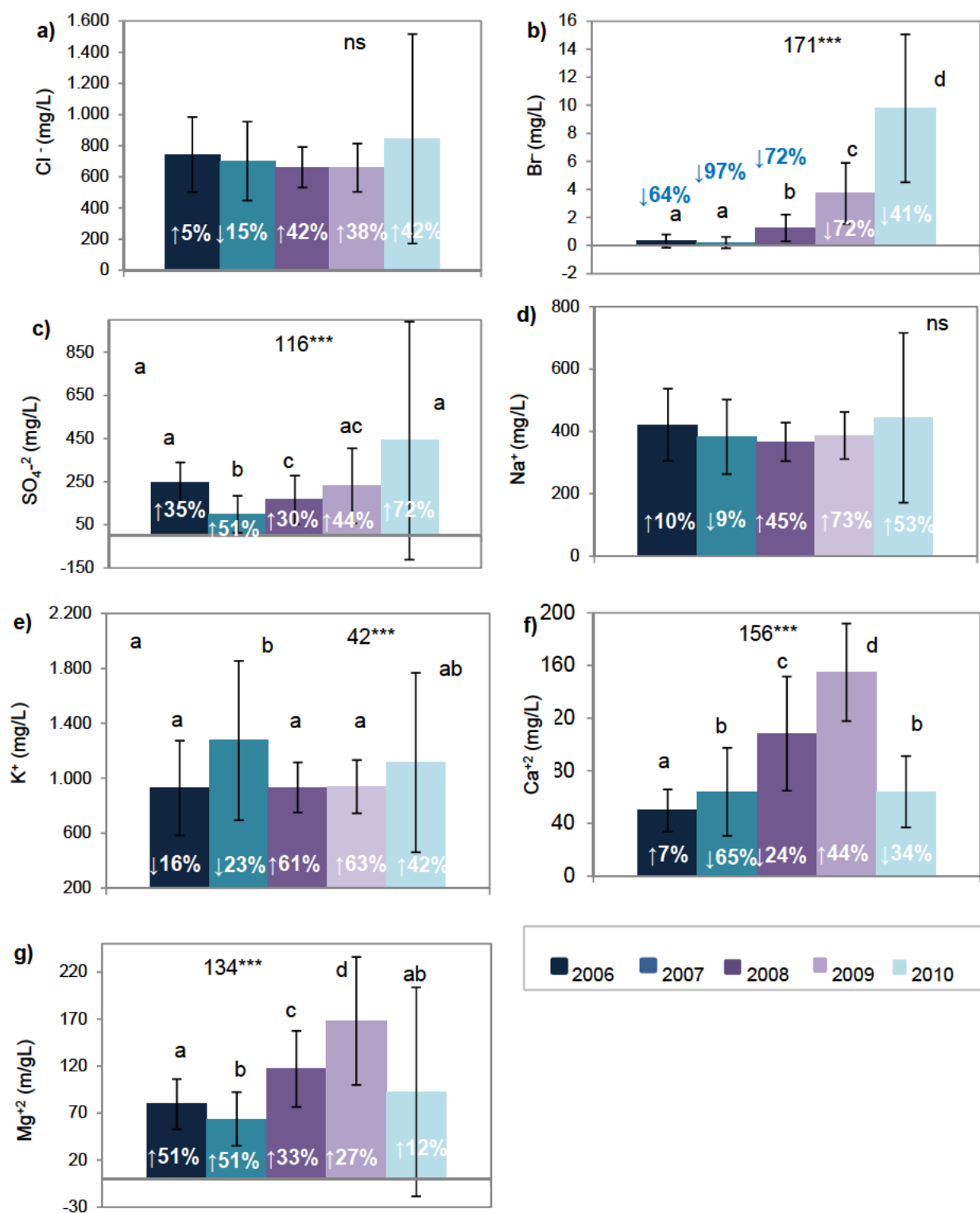


Figura IV.6.3. Valores promedio de aniones (Cl^- , Br^- y SO_4^{2-}) y cationes (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+}) de las muestras a la salida de los humedales, correspondiente a los distintos años. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. Las medias sin letras no son significativamente diferentes ($P > 0,05$). Chi^{2***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en valor absoluto indican aumento o disminución respecto al purín pre-tratado de entrada a los humedales durante el mismo año de estudio.

Con respecto a los iones (Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ y Mg^{+2}) mostraron aumentos en mayor o menor medida en los diferentes años, semejante a otros estudios (Kadlec y Knight, 1996; Finlayson *et al.*, 1987; Koch y Erskine, 2001; Pedersen *et al.*, 2004).

Los valores de AM (Fig. IV.6.3.a) disminuyeron a la entrada de los humedales y fueron oscilando a lo largo del periodo de estudio con diferencias significativas entre los diferentes años; en los primeros años disminuyeron en mayor medida hasta un 43%, sin embargo en el último año disminuyeron en menor medida (12%) indicando un crecimiento y enriquecimiento de microorganismos en el humedal.

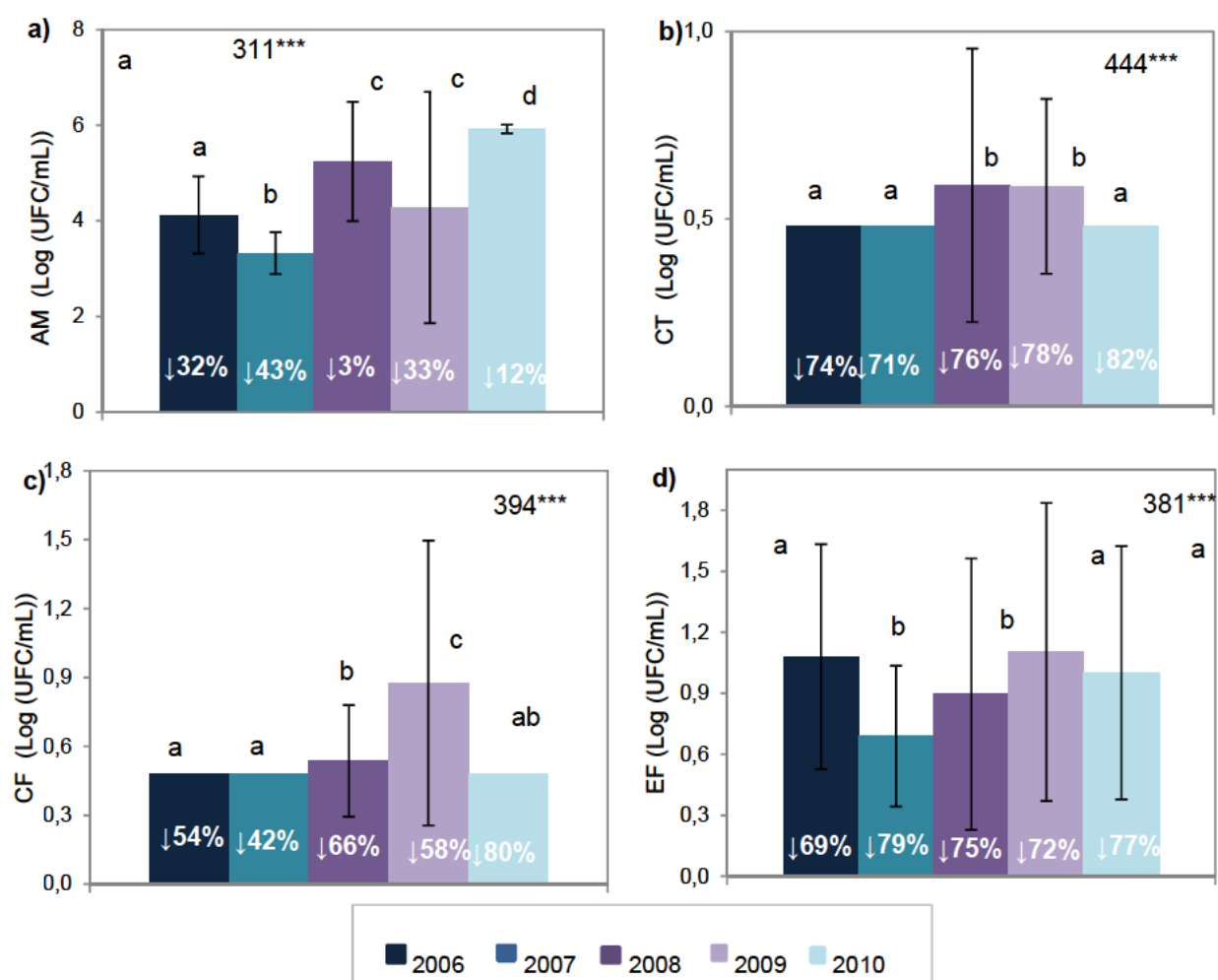


Figura IV.6.4. Valores promedio de AM, CT, CF y EF de las muestras a la salida de los humedales, correspondiente a los distintos años. Las barras verticales indican la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre valores después de la realización del test H de Kruskal-Wallis. χ^2_{***} indica diferencias significativas a $P < 0,001$; ns = no significativo. Los porcentajes en valor absoluto indican aumento o disminución respecto al purín bruto de entrada al sistema durante el mismo año de estudio.

Los macrófitos no solo toman nutrientes de las aguas residuales directamente, sino que actúan como catalizadores en las reacciones de depuración, incrementando la diversidad de la rizosfera y promoviendo una gran variedad de reacciones químicas y bioquímicas (Jenssen *et al.*, 1993), por lo que el incremento en las poblaciones de bacterias aerobias mesófilas es indicativo de una población microbiana más activa como consecuencia de un mayor desarrollo y actividad radicular de *P. australis*. El resto de parámetros microbiológicos como los CT (**Fig. IV.6.4.b**), CF (**Fig. IV.6.4.c**) y EF (**Fig. IV.6.4.d**) disminuyeron tras su paso por los humedales a lo largo del periodo de estudio, con algunas diferencias significativas, pero con unas eficiencias de remoción muy elevadas todos los años de estudio.

Karathanasis *et al.* (2003) mostraron una correlación positiva entre la madurez del sistema y los porcentajes de eliminación de CF y ET en los sistemas plantados con *Typha latifolia*, sugiriendo una mejora del tratamiento con el incremento de la producción de la biomasa en las raíces. Estos mismos autores comprobaron que las diferencias de tamaño y edad entre los humedales causaron diferencias anuales en la eficiencia de eliminación de bacterias fecales entre humedales con y sin planta. Además, los EF y CF en los sistemas policultivados mostraron mejores funcionamientos a través de los años, pero las medias de los porcentajes de eliminación para los EF no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los sistemas. Esto probablemente se debe a la variabilidad inherente entre y en los sistemas referido bajo la sección de CF y el hecho de que los mecanismos para la eliminación de las bacterias fecales son similares.

Por tanto, como ya se ha comentado, algunos procesos como los de obstrucción y saturación de sólidos en los humedales artificiales son los que limitan la eficacia de eliminación de contaminantes de los humedales y su funcionamiento como filtro a lo largo del tiempo, porque se desencadenarían procesos inversos a los sucedidos, liberando los contaminantes retenidos en ellos. En el estudio de esta tesis se apreció un ligero descenso en las eficiencias de eliminación de STS en los dos últimos años, y de Br⁻, Cu y Zn en el último año, aunque no supuso ningún impedimento para su buen funcionamiento. Además, el hecho de obtener elevadas eficiencias de eliminación sin diferencias significativas entre los años de estudio en los parámetros como SS y PT (indicadores de problemas de obstrucción) y elevadas eficiencias de eliminación en la mayoría de parámetros analizados significa que estos humedales artificiales después 5 años de operación aún siguen funcionando eficientemente.

V. CONCLUSIONES.

A) Características del purín y relaciones entre parámetros:

- Las concentraciones de los parámetros analizados del purín bruto en esta experiencia son algo más bajas con respecto a los encontrados en algunos estudios y con una elevada variabilidad, lo que dificulta enormemente su depuración en los humedales al no tratarse de un efluente homogéneo fácilmente de caracterizar. Se han encontrado algunas correlaciones entre los parámetros analizados destacando: conductividad eléctrica-nitrógeno total, conductividad eléctrica-nitrógeno amoniacal, cobre-zinc, fósforo total-zinc, sodio-cloruro, potasio-cloruro y sodio-potasio.

B) Eficiencia de los diferentes tratamientos:

- El conjunto de tratamientos ha logrado elevados descensos en la concentración de la mayoría de los parámetros analizados. El potencial redox aumentó debido principalmente al aporte de oxígeno de las plantas. El pH aumentó principalmente en la balsa por el consumo de dióxido de carbono de las microalgas en la fotosíntesis; y los iones cloruro, sodio, potasio y magnesio han aumentado ya que son muy solubles en medio acuoso.
- Los tratamientos iniciales, separador de fases, aireación-espesado de fangos y decantación, son sumamente importantes porque permiten una elevada eliminación de sólidos sedimentables y totales en suspensión, demanda bioquímica y química de oxígeno, fósforo total, cobre, zinc, sulfato y magnesio. Sin su presencia, se produciría una saturación de los humedales disminuyendo su eficiencia y longevidad.
- Los distintos procesos que tienen lugar en los humedales: volatilización, adsorción y sedimentación en el sustrato, fitodegradación, fitovolatilización y fitoacumulación en la planta, y degradación microbiológica en el biofilm, han permitido reducir especialmente el contenido de sólidos totales en suspensión y sedimentables, demanda bioquímica y química de oxígeno, fósforo total, cobre, zinc, nitrógeno total, amoniacal y orgánico, coliformes totales y fecales, estreptococos fecales, *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli*.
- El tratamiento de biorremediación por la acción de las microalgas, una de ellas identificada como *Scenedesmus sp*, ha permitido reducciones importantes del contenido de cobre, zinc, nitrógeno total, amoniacal y orgánico, y nitrato. Hay que destacar la importancia de esta etapa por su capacidad de eliminar nitratos, ya que en los tratamientos previos ha predominado una intensa nitrificación, y por ser uno de los parámetros tan contaminantes causantes de la eutrofización de las aguas. Debido a ello, es necesario contar con la balsa de biorremediación por parte de microalgas para garantizar una disminución en la concentración de nitratos y garantizar de este modo el uso del agua depurada para riego.

C) Efecto del sustrato:

- Existen diferencias significativas entre los humedales de una capa y dos capas de grava para el pH, la demanda bioquímica de oxígeno en cinco días, fósforo total, cobre, zinc, nitrato, cloruro, sulfato, sodio, potasio, calcio y magnesio.
- El uso de humedales con una sola capa de 80 cm de grava calcárea hizo posible una mejor eliminación de demanda bioquímica de oxígeno en cinco días, fósforo total, cobre y zinc, pero se observó un mayor aumento significativo de las concentraciones de nitrato, cloruro, sulfato, sodio, potasio y magnesio. El uso de humedales de dos capas de grava de diferentes diámetros hizo posible una mejor eliminación del catión calcio. Por lo tanto, de forma general, los humedales de una capa presentan una mayor eficiencia de depuración ya que eliminan mayor proporción de parámetros con mayor carga contaminante.

D) Efecto de la densidad de *Phragmites australis*:

- Existen diferencias significativas entre los humedales sin planta, y de densidades de 5 plantas/m² y 10 plantas/m² para el pH, conductividad eléctrica, sólidos totales en suspensión y totales disueltos, demanda química y bioquímica de oxígeno en cinco días, fósforo total, cobre, zinc, cloruro, bromuro, sulfato, sodio, potasio, calcio, coliformes totales y fecales y estreptococos fecales.
- Los humedales sin planta han permitido una significativa y mayor eliminación de sólidos totales en suspensión, bromuro, calcio y coliformes totales.
- Tanto en los humedales sin planta como en los de menor densidad de plantación (5 plantas/m²) se ha obtenido el mayor porcentaje de eliminación significativo de la concentración de coliformes fecales aunque los humedales de mayor densidad también muestran una eliminación importante. Los estreptococos fecales han presentado una remoción mayor en los humedales de densidad menor, siendo bastante aceptables para el resto de humedales.
- Tanto los humedales sin planta como los de mayor densidad de plantación (10 plantas/m²) son los que han permitido un significativo y mayor descenso de la conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos.
- En los humedales de mayor densidad de plantación el potencial redox es significativamente menos negativo, y son los que han permitido una mayor eliminación significativa de demanda bioquímica y química de oxígeno, fósforo total, cobre y zinc, siendo el efluente que contiene menor cantidad de iones disueltos. Por tanto, los humedales de mayor densidad de plantación son los más eficientes en general para eliminar la mayor parte de los contaminantes del purín.

E) Efecto del tiempo de retención hidráulica:

- Se ha demostrado la aplicabilidad y eficiencia de estos humedales artificiales, que a diferencia de la mayoría de los usados por otros investigadores, y por ello el proceso fue patentado (UPCT-IMIDA), tiene la particularidad de trabajar por lotes, no a flujo continuo, adaptándose a las características del purín.
- Existen diferencias significativas entre los diferentes tiempos de retención hidráulica para todos los parámetros analizados excepto para la temperatura, los sólidos sedimentables, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*.
- Los sólidos totales en suspensión tan sólo mostraron diferencias significativas para el rango de tiempo de 4-10 meses, resultando ligeramente menos eficiente que el resto.
- El tiempo de retención hidráulica de 1 semana - 1 mes presentó las mayores eficiencias de eliminación del contenido de nitrógeno total, amoniacal y orgánico, y menor aumento de concentración de nitratos.
- El tiempo de retención hidráulico de 1-2 meses presentó el mayor descenso de pH, menor aumento de potencial redox y las mayores eficiencias en la reducción de la conductividad eléctrica, sólidos totales disueltos, bromuro, cloruro, potasio, calcio, magnesio, bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y fecales, y la menor concentración de sodio.
- El tiempo de retención hidráulica de 2-4 meses mostró las mayores eficiencias en la disminución del contenido de fósforo total, demanda química y bioquímica de oxígeno en cinco días, cobre, zinc, estreptococos fecales, y la menor producción de sulfatos.
- De forma general, interesará trabajar a tiempos de retención hidráulica bajos, ya que son más efectivos en la eliminación del nitrógeno, siendo el parámetro más restrictivo en los purines de cerdo por la legislación para su uso en agricultura, para evitar la contaminación de las aguas por nitratos.

F) Estaciones del año:

- La temperatura del humedal varió $\pm 0,6$ °C respecto a la temperatura atmosférica. La mayor pérdida de volumen por evapotranspiración correspondió en las estaciones de primavera y verano; sin embargo en otoño se produjo un incremento del volumen debido a que ese fue el periodo de mayor abundancia de precipitaciones.
- No se han mostrado diferencias significativas entre las estaciones en los sólidos sedimentables, nitrato, bromuro, bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales y fecales, estreptococos fecales, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*.
- En primavera se produjo el mayor aumento significativo del potencial redox, el menor descenso de pH, y la mayor eficiencia de eliminación significativa de sólidos totales

en suspensión y totales disueltos, conductividad eléctrica, demanda química y bioquímica de oxígeno en cinco días, fósforo total, nitrógeno total, amoniacal y orgánico, cloruro, potasio y estreptococos fecales. En verano se produjo el menor aumento de magnesio y la mayor eficiencia de eliminación de sulfato y calcio. En otoño se produjo la menor eficiencia de eliminación para coliformes totales y fecales.

- Por tanto, en primavera se observaron las mejores eficiencias de remoción de la mayoría de parámetros analizados en el purín coincidiendo con una estación en la que las temperaturas son óptimas para la actividad y desarrollo microbiano, la evapotranspiración no es tan intensa como en verano, y es la época de desarrollo de la vegetación por lo que se activa la capacidad depurativa de la rizosfera.

G) Longevidad:

- No se han encontrado diferencias significativas entre los diferentes años de estudio en la temperatura, sólidos sedimentables, fósforo total, cloruro, sodio, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella*.
- La conductividad eléctrica y los sólidos totales disueltos presentaron ligeros descensos y algún aumento en los distintos años. Con el transcurso de los años se observa unas elevadas eficiencias de reducción de demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno en cinco días, nitrógeno total, amoniacal y orgánico.
- Las eficiencias de eliminación de los parámetros microbiológicos fueron muy elevadas durante todos los años.
- El potencial redox y la concentración de nitratos aumentaron con el transcurso del tiempo debido al crecimiento de las plantas que aportan una mayor cantidad de oxígeno desde las raíces a las zonas profundas del humedal. El pH disminuyó con respecto al de entrada en todos los años pero esa disminución fue progresivamente menor con el paso de los años alcanzando el pH de entrada. Las concentraciones de los iones sulfato, potasio y magnesio muestran una tendencia en mayor o menor medida a su aumento con el paso de los años.
- Se apreció un ligero descenso en las eficiencias de eliminación de sólidos totales en suspensión en los dos últimos años, y de bromuro, cobre y zinc en el último año, aunque no supuso ningún impedimento para su buen funcionamiento. Además, el hecho de obtener elevadas eficiencias de eliminación sin diferencias significativas entre los años de estudio en los parámetros como sólidos sedimentables y fósforo total (indicadores de problemas de obstrucción) y elevadas eficiencias de eliminación en la mayoría de parámetros analizados significa que estos humedales artificiales después 5 años de operación aún siguen funcionando eficientemente.

VI. REFERENCIAS.

- Abaiagar**, A., Iñigo, J.A., Pérez, J.J., Santos, A., Amezcua, J. y Carro, P. 1999. Purines de porcino (II). Navarra Agraria. 116, 38-48.
- Abed**, R.M., Safi, N.M., Koster, J., de Beer D., El-Nahhal, Y., Rullkotter, J. y García-Pichel, F. 2002. Microbial diversity of a heavily polluted microbial mat and its community changes following degradation of petroleum compounds. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 1674-1683.
- Abed**, R.M.M. y Köster, J. 2005. The direct role of aerobic heterotrophic bacteria associated with cyanobacteria in the degradation of oil compounds. *International Biodeterioration and Biodegradation* 55, 29-37.
- Acien**, F.G., González, C.V., Fernández, J.M., García-González, M., Moreno, J., Sierra, E., Guerrero, M.G. y Molina, E. 2008. Removal of CO₂ from flue gases coupled to the photosynthetic generation of biomass and exopolysaccharide by cyanobacteria. In: *Proceedings of 11th International Conference on Applied Phycology*, Galway, Ireland.
- Acosta** Plana, A. 2006. Procedimiento para la depuración de aguas residuales. Patente: ES 2 246 741 A1.
- AEMET**. Agencia Estatal de Meteorología. Gobierno de España. <http://www.aemet.es/>
- Agbenin**, J.O. 1996. Phosphorus sorption by three cultivated Savanna alfisols as influenced by pH. *Fertilizer research* 44, 107-112.
- Akratos**, C.S. y Tsihrintzis V.A. 2007. Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 29 173-191.
- Aldén**, L., Demoling, F. y Bååth, E., 2001. Rapid method of determining factors limiting bacterial growth in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 1830-1838.
- Al-Hasan**, R.H., Al-Bader, D.A., Sorkhoh, N.A. y Radwan, S.S. 1998. Evidence for n-a kane consumption and oxidation by filamentous cyanobacteria from oil-contaminated coasts of the Arabian Gulf. *Marine Biology* 130, 521-527.
- Alloway**, B.J. 1995. Soil processes and the behaviour of heavy metals. In: Alloway, B.J. (Ed.), *Heavy Metals in Soils*. Blackie Academic & Professional, London, UK, pp. 11-37.
- Al-Omari**, A. y Fayyad, M. 2003. Treatment of domestic wastewater by subsurface flow constructed wetlands in Jordan. *Desalination* 155, 27-39.
- Álvarez**, J.A., Torres L.A., Reinoso R. y Bécares E. 2005. Efecto de la degradación de las plantas en la eliminación de la materia orgánica en un humedal construido de flujo superficial. Pp. 39-44.
- An**, J.Y., Sim, S.J., Lee, J.S. y Kim, B.W. 2003. Hydrocarbon production from secondary treated piggery wastewater by the green algae *Botryococcus braunii*. *Journal of Applied Phycology* 15, 185-191.
- Anac**, S., Kukul Y. y Anac D. 2005. Cultivos que eliminan sales con técnica de fitorremediación. Pp. 174-178.
- Andrades**, M. 1996. *Prácticas de Edafología y Climatología*. Universidad de la Rioja (Ed.). Logroño, La. Rioja, España. 79 pp.
- Andrés**, P. 2008- www.3tres3.com
- APHA**, AWWA y WPCF. 1992. "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 20th edition. Washington, DC. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation.
- Arias**, C.A., Brix H. y Garza M.F. 2005. Alternativas para la eliminación de Fósforo en humedales artificiales de flujo subsuperficial. Pp. 74-79.
- Armstrong**, W., Armstrong J. y Beckett, P.M. 1990. Measurement and modelling of oxygen release from roots of *Phragmites australis*. In *Constructed Wetlands in Water Pollution Control*. Edited by Cooper P.F., Findlater B.C., 41-45. Pergamon Press, Oxford, U.K.
- Armstrong**, J., Afreen Zobayed, F. y Armstrong, W. 1996. *Phragmites* die-back: sulphide- and acetic acid-induced bud and root death, lignifications, and blockages within aeration and vascular systems. *New Phytologist* 134(4), 601-614.
- ASAE**. 1993. Manure production and characteristics (D384.1). In: *ASAE Standards*, 42nd Edn. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.
- Aslan**, L.S. y Kapdan, I.K. 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering* 28, 64-70.
- Austin**, D., Lohan, E. y Verson, E. 2003. Nitrification and denitrification in a tidal vertical flow wetland pilot. In: *Proceeding of the Water Environment Federation Technical Conference*, Los Angeles, California, USA.

- Ávila, C., Reyes, C., Bayona, JM. y García, J. 2013. Emerging organic contaminant removal depending on primary treatment and operational strategy in horizontal subsurface flow constructed wetlands: Influence of redox. *Water Research* 47, 315-325.
- Ayers, R.S. y Wescot, D.W. 1984. *Water Quality for Agriculture*. Irrigation and Drainage Paper 29. FAO. Roma.
- Babatunde, A.O., Zhao, Y.Q., O'Neill, M. y O'Sullivan B. 2008. Constructed wetlands for environmental pollution control: a review of developments, research and practice in Ireland. *Environment International* 34, 116–26.
- Babot, D., Martínez L. y Teira M^a R. 2001. Gestión de subproductos y residuos porcinos. *Mundo Ganadero*. Mayo. Pp. 34-37.
- Bankston, J.L., Sola, D.L., Komor, A.T. y Dwyer, D.F. 2002. Degradation of trichloroethylene in wetland microcosms containing broad-leaved cattail and eastern cottonwood. *Water Research* 36, 1539–1546.
- Barker, J.C. 1996. *Lagoon Design and Management for Livestock Waste Treatment and Storage*. North Carolina Cooperative Extension Service. Publication EBAE 103-83.
- Barlow, E.W.R., Boersma, L., Phinney, H.K. y Miner, J.R. 1975. Algal growth in diluted pig waste. *Agriculture and Environment* 2, 339–355.
- Batty, L.C. y Younger, P.L. 2002. Critical role of macrophytes in achieving low iron concentrations in mine water treatment wetlands. *Environmental Science and Technology* 36, 3997–4002.
- Bayo, J., Gómez-López M.D., Faz, A. y Caballero-Lajarín, A. 2012. Environmental assessment of pig slurry management after local characterization and normalization. *Journal of Cleaner Production* 32, 227-235.
- Beline, F.B. y Martínez J. 2002. Nitrogen transformations during biological aerobic treatment of pig slurry: effect of intermittent aeration on nitrous oxide emissions. *Bioresource Technology* 83, 225–228.
- Beline, F., Daumer, M.-L. y Guiziou, F. 2004. Biological aerobic treatment of pig slurry in France: nutrients removal efficiency and separation performances. *Transactions of the ASAE* 47(3), 857–864.
- Bellido, N., Porcel M.A., Delgado M., Miralles R., y Bigeriego M. 1997. Avances en la utilización agrícola de purines de cerdo: Estudio sobre la reutilización en la agricultura de residuos de ganado porcino. Cultivo de maíz y análisis de lixiviados. *Rev. Porci* nº 41 pp: 59-65.
- Belmont, M.A. y Metcalfe, C.D. 2003. Feasibility of using ornamental plants (*Zantedeschia aethiopica*) in subsurface flow treatment wetlands to remove nitrogen, chemical oxygen demand and nonylphenol ethoxylate surfactants – a laboratory-scale study. *Ecological Engineering* 21, 233–247.
- Belmonte, M., Rodríguez, D.C., Hsieh, Ch., Pozo G. y Vidal G. 2008. Estudios preliminares de trazabilidad a un purín de cerdo. XXXI Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Santiago, Chile.
- Bernal, M.P. 1990. Utilización de purines de cerdo en la fertilización de suelos calizos en condición de regadío. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, CSICS, Murcia.
- Bernal, M.P., Roig, A. y García, D. 1993. Nutrient balances in calcareous soils after application of different rates of pig slurry. *Soil Use Management* 9, 9–14.
- Bernal, M.P., Roig, A., Madrid, R. y Navarro, A.F. 1992. Salinity risks on calcareous soils following pig slurry applications. *Soil Use and management*. 8, 125-130.
- Bernet, N., Delgenes, N. y Moletta, R. 1996. Denitrification by anaerobic sludge in piggery wastewater. *Environmental Technology* 17, 293–300.
- Bertrand, M. 1993. Caracterización y gestión de los estiércoles sólidos y licuados en residuos ganaderos. Fundación “La Caixa”. Barcelona. Pp. 17-90.
- Bertrand, M. y Smaghe D. 1985. Development of rapid methods for estimating the fertilizing ability (nitrogen and potassium) of pig slurry and its changes during storage. *Journées de la recherche porcine en France*, C.E.M.A.G.R.E.F., 17, avenue de Cucillé, B.P. 1312, 35016 Rennes Cedex.
- Bezbaruah, A.N. y Zhang, T.C., 2004. pH, redox, and oxygen microprofiles in the rhizosphere of Bulrush (*Scirpus validus*) in a constructed wetland treating municipal wastewater. *Biotechnology and Bioengineering* 88(1), 60–70.
- Bhamidimarri, B., Shilton, A., Armstrong, I., Jacobson, P. y Scarlet, D. 1991. Constructed wetlands for wastewater treatment: the New Zealand experience. *Water Science and Technology* 24(5), 247–253.
- Bicudo, J.R. y Svoboda I.F. 1995a. Intermittent aeration of pig slurry — Farm scale experiments for carbon and nitrogen removal. *Water Science and Technology*. 32, 83-90.
- Bicudo, JR. y Svoboda Ivo F. 1995b. Effects of intermittent- cycle extended- aeration treatment on the fate of nutrients, metals and bacterial indicators in pig slurry. *Bioresource Technology* 54. Pp. 63- 72.

- Biddlestone**, A.J., Gray, K.R. y Jog, G.D. 1991. Treatment of dairy farm wastewaters in engineered reed bed systems. *Process Biochemistry* 26, 265–268.
- Bigambo**, T. y Mayo, A.W. 2005. Nitrogen transformation in horizontal subsurface flow constructed wetlands II: Effect of biofilm. *Physics and Chemistry of the Earth* 30, 668–672.
- Bigeriego**, M. 1999. Gestión de purines: Depuración y reutilización. *Producción Animal*. Noviembre, 28-55.
- Bigeriego**, M., Canales Canales, C. y Colmenares Planás, M. 2006. Guía de mejores técnicas disponibles del sector porcino. Pp. 136.
- Bishay**, F. y Kadlec, R.H. 2005. Wetland treatment at Musselwhite mine. In: Vymazal, J. (Ed.), *Nutrient Cycling and Retention in Natural and Constructed Wetlands*. Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands. Pp. 176–198.
- Blaabjerg**, V. y Finster, K. 1998. Sulphate reduction associated with roots and rhizomes of the marine macrophyte *Zostera marina*. *Aquatic Microbial Ecology* 15(3), 311–314.
- Blanco Flores**, D. y Tijero Miquel, J. 2002. Procedimiento y planta para el tratamiento de purines. Patente: ES 2 171 111 A1.
- Blaylock**, M.J. y Huang, J.W. 2000. Phytoextraction of metals. In: Raskin, I., Ensley, B.D. (Eds.), *Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean Up the Environment*. John Wiley and Sons, New York, pp 53–70.
- Bonmatí**, A. 2001. Usos de l'energia tèrmica per a la millora del procés de digestió anaeròbia de purins de porc i per a la recuperació de productes d'interès. Tesis doctoral, UdL. Lleida.
- Bonmatí**, A. y Flotats, X. 2003. Air stripping of ammonia from pig slurry: characterization and feasibility as a pre- or post-treatment to mesophilic anaerobic digestion. *Waste Management* 23, 261–272.
- Bonmatí**, A. y Magrí, A. 2006. Tecnologías aplicables en el tratamiento de las deyecciones ganaderas: un elemento clave para mejorar su gestión. *Residuos* 97, 46-69.
- BORM**. Boletín Oficial de la Región de Murcia. 3767 Orden de 3 de marzo de 2009, de la Consejería de Agricultura y Agua, por la que se establece el Programa de Actuación sobre la Zona Vulnerable correspondiente a los acuíferos de las Vegas Alta y Media de la Cuenca del río Segura. Número 57, pp: 9197- 9221.
<http://www.borm.es/borm/documento?obj=anu&id=363903>
- Borros Gómez**, S. 2001. Procedimiento para el tratamiento de purines. 2001. Patente: ES 2 153 739 B1.
- Bossel**, U. 2003. Well to Wheel Studies, Heating values and the energy conservation principle. Technical report, European Cell Tell Forum, Morgenacherstrasse 2F. [Oberrohrdorf, Switzerland].
- Brasó**, J.M. y Mas, M. 2005. Depuradora ecológica a base de plantas para zonas aisladas. Pp. 143-149.
- Bremner**, J.M., Blackmer, A.M. y Waring, S.A. 1978. Nitrous oxide emission from soil during nitrification of fertilizer nitrogen. *Science* 199, 295–296.
- Brenton**, W.H., 1994. A constructed wetland in use: 28 years. In: DuBow, P.J., Reaves R.P. (Eds.), *Constructed Wetlands for Animal Waste Management*. Proceedings of workshop, 4–6 April 1994. Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA, pp. 72–81.
- Brix**, H., 1994. Use of constructed wetlands in water pollution control: historical development, present status and future perspectives. *Water Science and Technology* 30, 209–223.
- Brisson**, J. y Chazarenc, F. 2009. Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: should we pay more attention to macrophyte species selection? *Science of the Total Environment* 407, 3923–3930.
- Brix**, H. 1994. Functions of macrophytes in constructed wetlands. *Water Science and Technology* 29, 71 - 78.
- Brix**, H. 1997. Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands? *Water Science and Technology* 35, 11–17.
- Brooks**, A.S., 1997. Phosphorus Removal by Wollastonite: A Constructed Wetland Substrate. Unpublished MS Thesis. Department of Agricultural and Biological Engineering, Cornell University, Ithaca, NY.
- Brown**, D.S. y Reed, S.C., 1994. Inventory of constructed wetlands in the United States. *Water Science and Technology* 29, 309-318.
- Buckley**, M. 1997. NYCO Minerals Inc., 124 Mountain View Drive, Willsboro, NY 12996. Personal communications.
- Burdick**, D.N., Buchsbaum, R. y Holt, E. 2001. Variation in soil salinity associated with expansion of *Phragmites australis* in salt wetlands. *Environmental and Experimental Botany* 46, 247–261.
- Burgoon**, P.S., Reddy, K.R. y Debusk, T.A. 1995. Performance of subsurface flow wetlands with batch-load and continuous-flow conditions. *Water Environment Research* 67, 855–862.
- Burke**, D.J., Weis, J.S. y Weis, P. 2000. Release of metals by the leaves of salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 51, 153–159.

- Burken**, J.G. y Schnoor, J.L. 1998. Predictive relationships for uptake of organic contaminants by hybrid poplar trees. *Environmental Science and Technology* 32, 3379–3385.
- Burton**, C.H. 1992. A review of the strategies in the aerobic treatment of pig slurry: Purpose, theory and method. *Journal of Agricultural Engineering Research* 53, 249-272.
- Burton**, C.H. 1997. Manure Management -Treatment Strategies for Sustainable Agriculture. Silsoe Research Institute, Silsoe, UK.
- Burton**, C.H. y Turner, C. 2003. Manure Management: Treatment Strategies for Sustainable Agriculture. 2nd Edition. Silsoe Research Institute, Silsoe, Bedford, UK. 181 pp.
- Burton**, C.H. 2007. The potential contribution of separation technologies to the management of livestock manure. *Livestock Science* 112, 208–216.
- Buss**, S.R., Herbert, A.W., Morgan, P., Thorton, S.F. y Smith, J.W.N. 2004. A review of ammonium attenuation in soil and groundwater. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology* 37, 347–359.
- Bustamante**, I., Vera, S., Sanz, J.M., Alpuente, J., Mateos, J., León, V., López, P., Corvea, J.L. y Larrañaga, J. 2005. Filtros verdes: Diseño, funcionamiento, evolución y control de la contaminación de las aguas subterráneas. Pp. 245-253.
- CAA**. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Estadística Agraria. [http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=1174&IDTIPO=100&RASTRO=c1415\\$m](http://www.carm.es/web/pagina?IDCONTENIDO=1174&IDTIPO=100&RASTRO=c1415$m).
- Caballero-Lajarín**, A., Faz A. y Lobera Lössel, J.B. 2006a. Reutilization of pig slurries: water recycling by constructed wetlands. Symposium on Environmental Biotechnology. Leipzig- Alemania.
- Caballero-Lajarín**, A., Faz, A. y Lobera Lössel, J.B. 2006b. Vertical flow surface constructed wetland as a treatment to remove pollutants from the pig slurry liquid phase: study case in La Aljorra, SE Spain. Congreso: Cost 859- Phytotechnologies lessons from pilot and field scale. WG4 "Integration and application of phytotechnologies". Sintra- Portugal.
- Caballero-Lajarín**, A., Faz, A. y Lobera Lössel, J.B. 2007. Nitrogen Removal from Pig Slurry by Constructed Wetlands. En: Bosch A., Teira M.R., Villar J.M. (eds). Toward a better efficiency in N use. Editorial Milenio, Lleida (España), pp. 449-451.
- Caballero-Lajarín**, A., Faz, A. y Lobera Lössel, J.B. 2008. Constructed wetland application to remove the pollution of waste water from pig farms. 5th International Conference on Land Degradation. Bari, Italy. Pp. 265- 267.
- Caballero-Lajarín**, A., Faz, A. y Lobera Lössel, J.B. 2009a. Bioremediation of pig farm wastewater using constructed wetland. En: Faz Cano, A., Mermut, A.R., Arocena, J.M., Ortiz Silla, R. (eds). Land Degradation and Rehabilitation- Dryland Ecosystems. Catena Verlag, 35447 Reiskirchen. *Advances in Geology* 40, 391-398.
- Caballero-Lajarín**, A., Faz, A., Lobera Lössel, J.B. y Palop, A. 2009b. Minimización de los impactos de la ganadería. Tratamientos del purín y reutilización. En: Avances en estudios sobre desertificación: aportaciones al Congreso Internacional sobre Desertificación en memoria del profesor John B. Thornes. *Advances in studies on desertification: contributions to the International Conference on Desertification in memory of professor Jo / coord.* por Asunción Romero Díaz, Francisco Belmonte Serrato, Francisco Alonso Sarria, Francisco López Bermúdez. Pp: 653-656 <http://dialnet.unirioja.es/servlet/autor?codigo=2518873>
- Caballero-Lajarín**, A., Faz Cano, A., Lobera Lössel, J.B. 2012. Humedal artificial y uso del mismo para la fitopurificación de efluentes líquidos. Patente: ES 2 363 363 B2.
- Calheiros**, C.S.C., Rangel, A. O.S.S., y Castro P. M.L. 2007. Constructed wetland systems vegetated with different plants applied to the treatment of tannery wastewater. *Water Research* 43, 1790–1798.
- Calheiros**, C.S.C., Rangel, A.O.S.S. y Castro, P.M.L. 2009. Treatment of industrial wastewater with two-stage constructed wetlands planted with *Typha latifolia* and *Phragmites australis*. *Bioresource Technology* 100, 3205–3213.
- Campbell**, A.J., MacLeod J.A. y Stewart C. 1997. Nutrient characterization of stored liquid hog manure. *Canadian Agricultural Engineering*, 39(1), 43–48.
- Campos** Pozuelo, A.E. 2001. Tesis doctoral: Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. 371 pp.
- Campos** Pozuelo, E., Palasit Civit, J., Illa Alivés, J., Solé Mauri, F., Magrí Aloy, A. y Flotats Ripoll, X. 2004. Guía de los tratamientos de las deyecciones ganaderas. 70 pp. [http:// www.arc-cat.net](http://www.arc-cat.net).
- Campos**, E.A., Martínez-Almela, J. y Flotats, X. 2002. Anaerobic digestion of solid fraction of pig slurry. In: Proceedings of the II International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Waste. Munich.

- Campos**, E.B., Teira, M.R. y Flotats, X. 2001. Aprovechamiento energético de lodos residuales y purines. Producción de Biogás. Jornades Tècniques Sobre Energia, Barcelona.
- Carballas**, T. y Díaz-Fierros, F. 1990. El purín de vacuno en Galicia. Caracterización, poder fertilizante y problemas ambientales. Xunta de Galicia. COTOP. 162 pp.
- Caselles-Osorio**, A. y García J. 2005. "Eliminación de materia orgánica disuelta y particulada en humedales construidos experimentales". Pp. 46-52.
- Castillón**, P. 1993. Valoración agronómica de las deyecciones animales. "En": Residuos ganaderos. Fundación "La Caixa". Barcelona. Pp. 131-40.
- Castorph**, D., Koll era, M. y Waas, P. 1999. Breenwert und Heizwert (The high and low heating values). Technical report. Fachhochschule München. FB, 03. Dachauer Straße 98 B.
- Cavo**, M., Baguer A.J. y Bascuas J.A. 2000. Contenido en componentes metálicos y no metálicos de los purines en una explotación intensiva de ganado porcino. Rev. Anaporc nº 196: 5-14.
- CBPA**, Código de Buenas Prácticas Agrarias. 2003. Orden del 3 de diciembre de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de la Región de Murcia.
- Cebrián**, A., Romero, A., Granell, C., Monllor, C., Espejo, C., Gil, E., Navarro, F., Alcaraz, F., Alonso, F., Belmonte, F., Calvo, F., Flores, F., López, F., Robledano, F., Calvo J. F., Andrés, J.L., González, J. L., Galiana, J.M., Gómez, J., Vilar, J.B., Calvín, J.C., Alvadalejo, M.V., Lillo, M., Arana, R., Ortiz, R., Rodríguez, T. 2007. Atlas Global de la Región de Murcia. Ed. La verdad- CMM SA. Pp 616.
- CEMAGREF**. 1990. Valoriser les déjections d'animaux" M. de l'Agriculture et de la Forêt. M. de l'Environnement (Francia). Programme d'action en Bretagne pour le réduction de la pollution des eaux par les nitrates provenant des activités agricoles.
- Cerniglia**, C.E., Gibson, D.T. y Baalen, C.V. 1979. Algal oxidation of aromatic hydrocarbons: formation of 1-naphthol from naphthalene by *Agmenellum quadruplicatum*, strain PR-6. Biochemistry and Biophysics Research Communications 88: 50-58.
- Cerniglia**, C.E., Gibson, D.T. y Baalen, C.V. 1980. Oxidation of naphthalene by cyanobacteria and microalgae. Journal of General Microbiology 116: 495-500.
- Chambers**, R.M., Mozdzer, T.J. y Ambrose, J.C. 1998. Effects of salinity and sulphide on the distribution of *Phragmites australis* and *Spartina alterniflora* in a tidal saltmarsh. Aquatic Botany 62(3), 161-169.
- Chambers**, B.J., Smith K.A. y Pain B.F. 2000. Strategies to encourage better use of nitrogen in animal manures. Soil Use and Management 16, 157-161.
- Chan**, S.Y., Tsang, Y.F., Chua, H., Sin, S.N. y Cui, L.H. 2008. Performance study of vegetated sequencing batch coal slag bed treating domestic wastewater in suburban area. Bioresource Technology 99, 3774-3781.
- Chen**, C.C., Dixon, J.B. y Turner, F.T. 1980. Iron coatings on rice roots – mineralogy and quantity influencing factors. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 635-639.
- Chen**, T.Y., Kao, C.M., Yeh, T.Y., Chien, H.Y. y Chao, A.C. 2006. Technical Note. Application of a constructed wetland for industrial wastewater treatment: a pilot-scale study. Chemosphere 64, 497-502.
- Chescheir**, G.M., Westerman P.W. y Safley Jr L. M. 1985. Rapid methods for determining nutrients in livestock manures. Transactions of the ASAE, 28(6), 1817-1824.
- Chevaux**, F. 2006. Proyecto fin de carrera: Tratamiento del purín de cerdo para la eliminación del nitrógeno basado en la oxidación anaerobia del amonio. 99 pp.
- Christos**, S.A., Vassilios A. y Tsihrintzis. 2007. Effect of temperature, HRT, vegetation and porous media on removal efficiency of pilot-scale horizontal subsurface flow constructed wetlands. Ecological engineering 29, 173-191
- Chu**, H.Y., Tam, N.F.Y., Lam, S.K.S. y Wong, Y.S. 2000. Retention of pollutants by Mangrove soil and the effect of pollutants on *Kandelia candel*. Environmental Technology 21, 755-764.
- Cifre Crespo**, F.J. 2008. Proyecto fin de Carrera: Impacto Medioambiental de Purines en la Región de Murcia: análisis microbiológico de muestras provenientes de distintas tecnologías de depuración. Pp.99.
<http://repositorio.bib.upct.es/dspace/handle/10317/767>
- Ciria**, M.P., Solano, M.L. y Soriano, P. 2005. Role of macrophyte *Typha latifolia* in a constructed wetland for wastewater treatment and assessment of its potential as a biomass fuel. Biosystems Engineering 92, 535-544.
- Ciupa**, R., 1996. The experience in the operation of constructed wetlands in North-Eastern Poland. Proceedings of the Fifth International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, Vienna, Austria, Vol. 2, pp. IX6.1-IX6.8.

- Cobertera**, E. 1993. Edafología Aplicada. Suelos, producción agraria, planificación territorial e impactos ambientales. Cobertera E (ed.). Madrid. 326 pp.
- Cohen**, Y., Castenholz, R.W. y Halvorson, H.O. 1984. Microbial mats: stromatolites. Alan R. Liss, Inc., N.Y., USA.
- Cohen**, Y. y Rosenberg, E. 1989. Microbial mats: Physiological ecology of benthic microbial communities. ASM editions, Washington DC, USA.
- Coleman**, J., Hench, K., Garbutt, K., Sexstone, A., Bissonnette, G. y Skousen, J. 2001. Treatment of domestic wastewater by three plant species in constructed wetlands. *Water Air Soil Pollution* 128, 283-295.
- Collins**, B., McArthur, J.V. y Sharitz, R.R. 2004. Plant effects on microbial assemblages and remediation of acidic coal pile runoff in mesocosm treatment wetlands. *Ecological Engineering* 23, 107–115.
- Connolly**, R., Zhao, Y., Sun, G. y Allen, S. 2004. Removal of ammoniacal nitrogen from an artificial landfill leachate in downflow reed beds. *Process Biochemistry* 39, 1971–1976.
- Cook**, Ch. 1990. Aquatic Plant Book. Academic Publishing. The Hague.
- Cooper**, P.F. y Boon, A.G. 1987. The use of *Phragmites* for wastewater treatment by the root zone method: the UK approach. In: Reddy, K.R., Smith, W.H. (Eds.), *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Magnoli Publishing Inc, Orlando, FL, pp. 153–174.
- Cooper**, P.F., Job, G.D., Green, M.B. y Shutes, R.B.E. 1996. Reed Beds and Constructed Wetlands for Wastewater Treatment. WRc Publications, Swindon, UK, pp. 29–34.
- Cooper**, P. 2005. The performance of vertical flow constructed wetland systems with special reference to the significance of oxygen transfer and hydraulic loading rates. *Water Science and Technology* 51 (9), 81– 90.
- Coppenet**, M., Golven, J., Simon, J.C. y Le Core, L.M. 1993. Evolution chimique des sols en exploitations d'élevage intensif: exemple du finistère, *Agronomie* 13, 77–83.
- Corrigan**, N. 1993. Selection Of Substrate For Phosphorus Adsorption In Artificially Constructed Wetlands. Unpublished National Science Foundation: Research Experience for Undergraduates Report. Department of Agricultural and Biological Engineering, Cornell University, Ithaca, NY.
- Cortellini**, L. 2006. "Policy and measures on manure and manure treatment". Technical Workshop on Manure Processing. Brussels, 6-7 November. Organized by European Commission, DG-Environment and WUR. En: <http://forum.europa.eu.int/Public/irc/env/manure_processing/home> [Consulta: 18 de noviembre de 2006].
- Cortijo**, R., Ansoa G. y Luis E. 2005. "Aplicación de tecnologías de bajo coste para la depuración integral de agua residual en pequeños municipios de la Comunidad de Castilla y León". Pp. 102-107.
- Costa** Yagüe, F. 1987. Estudio de purines de cerdo y su utilización con fines agrícolas en Murcia. Proyecto de Investigación 52/210 del CEBAS.
- Costa** Yagüe, F. 1991. Los purines del cerdo como problema. *Rev. Agrishell* nº 47.
- Côté**, C., Massé D.I. y Quessy, S. 2006. Reduction of indicator and pathogenic microorganisms by psychrophilic anaerobic digestion in swine slurries. *Bioresource Technology* 97. Pp. 686–691.
- Cronk**, J.K. 1996. Constructed wetlands to treat wastewater from dairy and swine operations: a review. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 58, 97-114.
- Crumpton**, W.G., Isenhardt, T.M. y Fisher, S.W. 1993. Fate of non-point source nitrate loads in freshwater wetlands: results from experimental wetland mesocosms. In: Moshiri, G.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 283–291.
- Czepiel**, P., Crill, P. y Harriss, R. 1995. Nitrous oxide emissions from municipal wastewater treatment. *Environmental Science and Technology* 29, 2352–2356.
- D'Angelo**, E.M. y Reddy, K.R. 1999. Regulators of heterotrophic microbial potentials in wetland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 815–830.
- D'Angelo**, E.M. 2002. Wetlands: biodegradation of organic pollutant. In: Bitton, G. (Ed.), *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. John Wiley and Sons, New York, USA, pp. 3401–3417.
- Danés**, R., Molina, U., Prats, LL., Alamos, M., Boixadera, J. y Torres, E. 1996. Manual de gestió dels purins i de la seva reutilització agrícola. 128 pág. (Ed) Departament de Medi Ambient, Junta de Residus i Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca Generalitat de Catalunya.
- Danés**, R. y Boixadera J. 2001. Aspectos generales a considerar en la planificación y gestión de la aplicación de residuos orgánicos al suelo. En: *Aplicación agrícola de residuos orgánicos*. J. Boixadera y M.R. Teira (eds.). Servei de Publicacions. Universitat de Lleida. Pp. 79-104.

- Daúden**, A. y Quílez, D. 2003. Purines como fertilizantes agrícolas. Albéitar. Publicación para veterinarios y técnicos del sector de animales de producción. 62: 6-7.
- Daúden**, A., Quílez, D. y Vera, M.V. 2004. Pig slurry application and irrigation effects on nitrate leaching in Mediterranean soil lysimeters. *Journal Environmental Quality*. 33, 2290-2295.
- Daumer**, M.-L., Beline, F. y Parsons, S.A. 2009. Chemical recycling of phosphorus from piggery wastewater, in: K. Ashley, D. Mavinic, F. Koch (Eds.), *International conference on nutrient recovery from wastewater streams*, IWA Publishing, London, pp. 339–350.
- Daumer**, M.-L., Picard, S., Saint-Cast, P. y Dabert P. 2010. Technical and economical assessment of formic acid to recycle phosphorus from pig slurry by a combined acidification–precipitation process. *Journal of Hazardous Materials* 180, 361–365.
- de Godos**, I., Blanco, S., García-Encina, P., Bécares, E. y Muñoz, R. 2009b. Long-term operation of high rate algal ponds for the bioremediation of piggery wastewaters at high loading rates. *Bioresource Technology* 100, 4332–4339.
- de Godos**, I., González, C., García-Encina, P., Bécares, E. y Muñoz, R. 2009a. Simultaneous nitrification–denitrification, phosphorous and carbon removal during pre-treated swine slurry degradation in a tubular biofilm photobioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* 82(1), 187–194.
- de Godos**, I., Vargas, V.A., Blanco, S., García González, M.C., Soto, R., García-Encina, P.A., Becares, E. y Muñoz, R. 2010. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. *Bioresource Technology* 101, 5150–5158.
- de la Flor** Masedo, M. y Lobete Huertas, F. 1996. Contaminación por metales pesados en suelos afectados por purines de cerdo en la provincia de Segovia. *Cajasegovia*. Segovia.
- de la Noue**, J. y Basseres, A. 1989. Biotreatment of anaerobically digested swine manure with microalgae. *Biological Waste* 29, 17–31.
- de la Torre**, A.I. y Rueda O. 1997 Estudio técnico del impacto ambiental de una explotación porcina. *Rev. Porci* nº 41 pp: 47-57.
- de la Torre**, A.I., Díez J.A., González M. y Muñoz M.J. 2001. Reutilización de purines. Un valor en alza. *Rev. Porci* nº 65 pp: 85-95.
- de la Torre**, A. I. 1999. Estudios técnicos en gestión medio ambiental. *Anaporc* Octubre, 74-86.
- Decreto 16/1999**, de 22 de abril, sobre vertidos de aguas residuales industriales al alcantarillado.
- Decreto Legislativo 1/2005**, de 10 de junio, por el que se aprueba texto refundido de la Ley del Suelo de la Región.
- Del Bubba**, M., Lepri, L., Griffini, O. y Tabani, F. 2000. Nitrogen removal in a pilot-scale subsurface horizontal flow constructed wetland. *Ann Chim*, 90, 513–24.
- Delgado**, M., Porcel, M., Miralles de Imperial, R., Bellido, N., Bigeriego, M., Beltrán, E. y Calvo, R., 1999. Mineralización del nitrógeno procedente de residuos orgánicos. *Rev. Internacional de Contaminación Ambiental* 15(1), 19-25.
- Den Hartog**. 1964. An approach to the taxonomy of the seagrass genus *Halodule* Endl. (Potamogetonaceae). *Blumea* 12, 289-312.
- Diakova**, K., Holcova, V., Sima, J. y Dusek, J. 2006. The distribution of iron oxidation states in a constructed wetland as an indicator of its redox properties. *Chemistry and Biodiversity* 3, 1288–1300.
- Díaz**, F.J., O'Geen, A.T. y Dahlgren, R.A. 2010. Efficacy of constructed wetlands for removal of bacterial contamination from agricultural return flows. *Agricultural Water Management* 97, 1813–1821.
- Díez**, A. 2000. Entrevista con D. Agustín Díez Cisneros: los purines y sus tratamientos. *Revista Medio Ambiental Econotici@s.com*, nº 6, III trimestre.
- DIN 38 409 - H41-1 y DIN ISO 15 705 - H45**. Métodos normalizados alemanes para el examen de aguas, aguas residuales y lodos
- Directiva Europea de Nitratos (91/676/CEE)**, transpuesta a la legislación española mediante el RD 261/1996, que impone a los Estados miembros la obligación de identificar las aguas que se hallen afectadas por la contaminación por nitratos.
- Directiva 96/61/CE**, de 24 de septiembre desarrollada por la Directiva 2003/35/CE, Directiva 2003/87/CE, Reglamento 1882/2003 y Reglamento 166/2006.
- Dolfing**, J. y Janssen, D.B. 1994. Estimates of Gibbs free energies of formation of chlorinated aliphatic compounds. *Biodegradation* 5, 21–28.

- Domínguez** S.G. y **Faz**, A. 2009. "Utilización sostenible de purines de cerdo, con y sin tratamiento, como enmienda orgánica en cultivos de almendro". *Advances in studies on desertification*. Pp. 665- 668.
- Domínguez**, S.G., **Zornoza** R., **Faz**, A. 2010. Nitrogen dynamics in a soil amended with raw and treated pig slurry in an almond orchard, Cartagena SE Spain. 14th Ramiran International Conference. Treatment and use of organic residues in agriculture: Use of manures and organic wastes to improve soil quality and nutrient balances Electronic edition 0149.
- Dordio**, A.V., **Teimão**, J., **Ramallo**, I., **Carvalho**, A.J.P., **Candeias**, A.J.E. 2007. Selection of a support matrix for the removal of some phenoxyacetic compounds in constructed wetlands systems. *Science of the Total Environment* 380, 237–246.
- Dragun**, W.1978. Quantitative and qualitative characteristics of manure from closed cycle pig farms. *Proceedings of the Rural Design Official Association*, Szczecin, Poland, May 1978.
- Drizo**, A., **Frost**, C. A., **Smith**, K.A., **Grace** J. 1997. Phosphate and ammonium removal by constructed wetlands with horizontal subsurface flow, using shale as a substrate. *Water Science and Technology* 35(5), 95-102.
- Drizo**, A., **Frost**, C.A., **Grace**, J., **Smith**, K.A. 1999. Physico-chemical screening of phosphate-removing substrates for use in constructed wetland systems. *Water Research* 33, 3595–3602.
- Drizo**, A., **Frost**, C.A., **Grace**, J. y **Smith**, K.A. 2000. Phosphate and ammonium distribution in a pilot-scale constructed wetland with horizontal subsurface flow using shale as a substrate. *Water Research* 34, 2483–2490.
- Dunne**, E.J., **Culleton**, N., **O'Donovan**, G., **Harrington**, R. y **Olsen**, A.E. 2005. An integrated constructed wetland to treat contaminants and nutrients from dairy farmyard dirty water. *Ecological Engineering* 24, 221–234.
- Duthion**, C., **Catroux**, G. y **Germon**, J.C. 1979. Landspreading of liquid pig manure: II. Nutrient balances and effects on drainage water. In: **Grasser** (Ed.), *Effluents from Livestock*. Applied Science Publishers Ltd., London, pp. 59–79.
- Eger**, P. 1994. Wetland treatment for trace metal removal from mine drainage: the importance of aerobic and anaerobic processes. *Water Science and Technology* 29, 249–256.
- Eghball**, B. y **Power** J.F. 1994. Beef cattle feedlot manure management. *Journal of Soil and Water Conservation*. 113-122.
- Elkins**, J.W., **Wosfy**, S.C., **McElory**, M.B. y **Kaplan**, W.A. 1978. Aquatic source and sinks for nitrous oxide. *Nature* 275, 602–606.
- EPA**, (US Environmental Protection Agency). 1993. Office of Research and Development, Washington, DC.
- Erskine**, A.D. 2000. Transport of ammonium in aquifers: retardation and degradation. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology* 33, 161–170.
- Espejo** Marín, C. y **García** R. 2009. Tratamiento de purines de ganado porcino en España para minimizar la contaminación de suelos y su impacto ambiental. Pp. 673-676.
- Espiell** Álvarez, F., **Segarra** Rubí, M., **Chimenos** Ribera, J.M. y **Fernández** Renna, A.I. 2010. Procedimiento para la reducción de la concentración de amonio en deyecciones de explotaciones ganaderas. Patente: ES 2 332 300 A1.
- Estévez** Rodríguez, M.D., **Gómez** Garrido M., **Büyükkılıç** Yanardağ, A., **Olivares** Martínez, A.B. y **Faz** Cano, A. 2010. Proyecto piloto de gestión medioambiental de purines en la región de Murcia, SE España. XV. Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. Pereira-Risaralda, Colombia.
- Europactizyme**. 1999. Plan estratégico para la gestión y el tratamiento de los purines de cerdo producidos por la ganadería porcina en la Provincia de Valencia, Estudio IV. Diputació de València, Medi Ambient. 91 p.
- FAOSTAT**. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Estadística de FAO. <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>. Consulta realizada en 2013.
- Faz**, A., **Llona**, M., **Tortosa**, J., **Palop**, A., **Andújar**, M. y **Lobera** J.B. 2003. Utilización de purines de cerdo para fertilización de cultivos hortícolas como sustitución de fertilización mineral en Lorca (Murcia). *Forum Calidad*. Madrid-España. 15-666 pp.
- Faz**, A., **Tortosa**, J.L., **Andújar**, M., **Llona**, M., **Lobera**, J.B., **Palop**, A., **Amat**. S. 2005. Application of Pig Slurries in the Guadalentín Valley for Brócoli and Watermelon Production: Preliminari Results. Sustainable Use and Management of Soil. Arid and Semiarid Regions. *Advances in GeoEcology*. Catena Verlag GMBH. Reiskirchen, Germany. 133-148 pp.
- Faz**, A., **Gallardo**, R., **Muñoz**, M.A., **Yanardag**, I. y **Bretón**, J. 2010. Uso agronómico del purín y control de la emisión de gases de efecto invernadero. IV Congreso Ibérico de la Ciencia del Suelo. Granada (España).369 p.

- Felipó, MT.** 2001. Los elementos potencialmente tóxicos (EPT) como criterio en la aplicación de residuos orgánicos al suelo. En: Aplicación agrícola de residuos orgánicos. J. Boixadera y M.R. Teira (eds.). Servei de Publicacions. Universitat de Lleida. Pp. 159-174.
- Feng, J.N. y Hsieh, Y.P.** 1998. Sulphate reduction in freshwater wetland soils and the effects of sulphate and substrate loading. *Journal of Environmental Quality* 27(4), 968–972.
- Fernández González, J.** 2010. Unidad de plantación para el cultivo de plantas halófilas y sistema de plantación que comprende la misma. Patente: ES 2 331 556 A1.
- Ferrer, P.J., Sanz J.B. y Pomar J.** 1981 Utilización agrícola del estiércol líquido de porcino (ELP). Full d'informació técnica (FIT) nº 14. 26pp.
- Ferrer, P.J., Sanz, J.B. y Pomar, J.** 1983. Posibilidades de utilización agrícola del estiércol líquido de porcino (ELP) en relación con su valor fertilizante y su incidencia sobre el suelo. I. Composición y valor fertilizante del ELP. *Anales del INIA, Servicio Agrícola* 23, 35-57.
- Fierer, N., Schimel, J.P. y Holden, P.A.,** 2003. Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 167–176.
- Finlayson, C.M., Farrell, T.R. y Griffiths, D.J.** 1982. Treatment of sewage effluent using the water fern *Salvinia*. *Water Research Found Australia Technical Reports* 57, 37.
- Finlayson, C.M. y Chick, A.J.** 1983. Testing the potential of aquatic plants to treat abattoir effluent. *Water Research* 17, 415-22.
- Finlayson, C.M., Chick, A., von Oertzen, I. y Mitchell, D.** 1987. Treatment of Piggery Effluent by an Aquatic Plant Filter. *Biological Wastes* 19, 179-196.
- Flotats, X., Campos, E., Palatsi, J. y Bonmatí, X.** 2001. Digestión anaerobia de purines de cerdo y codigestión con residuos de la industria alimentaria. *Porci; Monografías de actualidad* 65, 51-65.
- Flotats, X.** 2009. Gestión y tratamiento de deyecciones ganaderas. XXV curso de especialización FEDNA. 13-42 pp.
- Flowers, T.J., Troke, P.F. y Yeo, A.R.** 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Biology* 28, 89–121.
- Fountoulakis, M.S., Terzakis S., Chatzinotas, A., Brix, H., Kalogerakis, N. y Manios, T.** 2009. Pilot-scale comparison of constructed wetlands operated under high hydraulic loading rates and attached biofilm reactors for domestic wastewater treatment. *Science of the Total Environment* 407, 2996–3003.
- Gagnon, V., Chazarenc, F., Comeau, Y. y Brisson, J.** 2006. Influence of macrophytes species on microbial density and activity in constructed wetlands. *Proc. 10th International Water Association Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control. MAOTDR (Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional), Lisbon, Portugal; pp. 1025–33.*
- García, J., Aguirre, P., Mujeriego, R., Huang, Y., Ortiz, L. y Bayona, J.M.** 2004a. Initial contaminant removal performance factors in horizontal flow reed beds used for treating urban wastewater. *Water Research* 38, 1669–1678.
- García, J., Chiva, J., Aguirre, P., Álvarez, E., Sierra, J.P., y Mujeriego, R.** 2004b. Hydraulic behaviour of horizontal subsurface flow constructed wetlands with diferente aspect ratio and granular medium size. *Ecological Engineering* 23, 177–187.
- García, J., Aguirre P., Barragán J., Mujeriego R., Matamoros V. y Bayona J.M.** 2005. Effect of key design parameters on the efficiency of horizontal subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 25, 405–418
- García, M., Soto F., González J. M. y Bécares, E.** 2008. A comparison of bacterial removal efficiencies in constructed wetlands and algae-based systems. *Ecological Engineering* 32, 238–243.
- Gearheart, R.A.,** 1992. Use of constructed wetlands to treat domestic wastewater, City of Arcata. California. *Water Science and Technology* 26, 1625–1637.
- Gearheart, R.A. y Higley, M.** 1993. Constructed open surface wetlands: the water quality benefits and wildlife benefits—City of Arcata, California. In: Moshiri, G.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 561–567.
- Geller, G.** 1997. Horizontal subsurface flow systems in the German speaking countries: summary of long-term scientific and practical experiences recommendations. *Water Science and Technology* 35, 157–66.
- Geohring, L.D., Steenhuis, T.S. y Corrigan, N.,** 1995. Specialized substrates for phosphorus removal with constructed wetlands. In: Campbell, K.L. (Ed.), *Versatility of Wetlands in the Agricultural Landscape*. ASAE Publication 70IP0995. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, pp. 607–617.

- Germon, J.C., Duthion C., Couton Y., Crosman R., Guenot L. y Mortier J.** 1979 Landspreading of liquid pig manure: III.1. Survey of the pig farms in the "Bresse". En: "Effluents from Livestock". Ed. Grasser 1980. Applied Science Publishers LTD (Londres) pp: 80-95.
- Gerritse, R.G.** 1993. Prediction of travel times of phosphate in soils at a disposal site for wastewater. *Water Research* 27, 263- 267
- Gersberg, R.M., Lyon, S.R., Elkins, B.V. y Goldman, C.R.** 1984a. The removal of heavy metals by artificial wetlands, in: *Proc. Conf.Future of Water Use. AWWA Research Foundation, Denver, CO*, 639-648.
- Gersberg, R.M., E kins, B.V. y Goldman, C.R.** 1984b. Use of artificial wetlands to remove nitrogen form wastewater. *Journal Water Pollution Control Federation* 56, 152–156.
- Gersberg, R.M., E kins, B.V., Lyon S.R. y Goldman, C.R.** 1986. Role of aquatic plants in wastewater treatment by artificial wetlands. *Water Research* 20, 363-367.
- Gersberg, R.M., Brenner, R., Lyon, S.R. y Elkins, B.V.** 1987. Survival of bacteria and viruses in municipal wastewater applied to artificial wetlands. In: Reddy, K.R., Smith, W.H. (Eds.), *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Magnolia Publishing, Orlando, FL, pp. 237-245.
- Gómez-Garrido, M., Estévez, M.D., Faz, A., Olivares, A.B. y Climent, V.** 2009. Valorización agronómica de purines para su utilización en común. "En": *Avances en estudios sobre desertificación*. Romero, A., Belmonte, F., Alonso, F., López, F. (eds). Murcia, 689-692 pp.
- González-Ortiz, J.L., y Sánchez Sánchez, J.** 1981. La diversidad del espacio regional. En Chacón Jiménez, F. y González Ortiz, J.L. (Coords.), *Historia de la Región de Murcia*. Tomo I. 258-447 pp.
- González-Ortiz, J.L.** 1999. *Geografía de la Región de Murcia*. Editora regional de Murcia. 402 p.
- González-Ortiz, J.L.** 2003. *Geografía de la Región de Murcia*. ICE Universidad de Murcia. Diego Marín. 135 p.
- González-Ortiz, J.L.** 2007. La organización del territorio: comarca de Lorca. "En" *Reverte García, M.P., Jiménez Cano, J.M., González-Adalid Cabezas, M.T., Moreno Espinosa, J., de Juan Rubio, M. y Caballero Carpena, M. (eds). Atlas global de la Región de Murcia*. La Verdad. Murcia. 468-478 pp.
- González, B.,** 2003. Porcino y purín: Situación actual. *Albéitar* nº 62 (Enero-Febrero). Suplemento Especial.
- González, C., Marciniak, J., Villaverde, S., García-Encina, P.A. y Muñoz, R.** 2008a. Microalgae based processes for the biodegradation of pretreated piggery wastewaters. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80(5), 891–898.
- González, C., Marciniak, J., Villaverde, S., León, C., García, P.A. y Muñoz, R.** 2008b. Efficient nutrient removal from swine manure in tubular biofilm photobioreactor using algae–bacteria consortia. *Water Science and Technology* 58(1), 95–102.
- González-Fernández, C., Nieto-Diez P.P., León-Cofreces, C. y García-Encina, PA.** 2008. Solids and nutrients removals from the liquid fraction of swine slurry through screening and flocculation treatment and influence of these processes on anaerobic biodegradability *Bioresource Technology* 99, 6233–6239.
- Gonzalías, A.E.** 2005. "Post treatment of sulfide loaded effluent from anaerobic treatment in laboratory-sacle constructed wetlands-model experiments". Pp. 268-272.
- Gottschall, N., Boutin, C., Crolla, A., Kinsley, C. y Champagne P.** 2007. The role of plants in the removal of nutrients at a constructed wetland treating agricultural (dairy) wastewater, Ontario, Canada. *Ecological Engineering* 29, 154–163.
- Gracia, F.J.E.** 2001. La maquinaria de aplicación como factor de calidad de la aplicación de residuos. "En": *Aplicación Agrícola de residuos orgánicos*. J. Boixadera and R. M. Teira, eds., Lérida.
- Gray, N.F.,** 2004. *Biology of Wastewater Treatment*, second ed. Imperial College Press, London, UK, pp. 282–290.
- Gray, S., Kinross, J., Read, P. y Marland, A.** 2000. The nutrient assimilative capacity of maerl as a substrate in constructed wetland systems for waste treatment. *Water Research*, 34, 2183-2190.
- Green, M.B. y Upton, J.** 1994. Constructed reed beds: a cost effective way to polish wastewater effluents for small communities. *Water Environment Research* 66, 188–192.
- Green, M.B.** 1997a. Experience with establishment and operation of reed bed treatment for small communities in the UK. In: *Nutrient Cycling and Retention in Wetlands*, Vymazal J. ed. *Wetlands Ecology and Management* Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. 4, 147- 158.
- Green, M.B., Griffin, P., Seabridge, J.K. y Dhoibie, D.** 1997b. Removal of bacteria in subsurface flow wetlands. *Water Science and Technology* 35, 109-116.

- Greenway**, M. y **Woolley**, A. 1999. Constructed wetlands in Queensland: Performance efficiency and nutrient bioaccumulation. *Ecological Engineering* 12, 39–56.
- Greger**, M. 1999. Metal availability and bioconcentration in plants. In: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J. (Eds.), *Heavy Metal Stress in Plants: From Molecule to Ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Gries**, C. y **Garbe**, D., 1989. Biomass, and nitrogen, phosphorus and heavy metal content of *Phragmites australis* during the third growing season in a root zone waste water treatment. *Archiv für Hydrobiologie* 117, 97–105.
- Griffin**, P. y **Upton**, J. 1999. Constructed wetlands: A strategy for sustainable Wasterwater treatment at small treatment works. *Journal of the Chartered Institution of Water and Environmental management* 13(6), 441-6.
- Grötzschel**, S., Köster, J., Abed, R.M.M. y de Beer, D. 2002. Degradation of petroleum compounds immobilized on clay by a hypersaline mat. *Biodegradation* 13, 273-283.
- Günter**, L., Raimund, H., Johannes, L. y Alexander, P. 2005. Evaluation of substrate clogging processes in vertical flow constructed wetlands. Department for Sanitary Engineering and Water Pollution Control. University of Agricultural Science Vienna.
- Haberl**, R., Perfler, R. y Mayer, H. 1995. Constructed wetlands in Europe. *Water Science and Technology* 32, 305-315.
- Hall**, J.E. 1999. Nutrient recycling: The European experience. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 12, 667-74.
- Hammer**, D.A. 1989. *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*. Lewis Publishers Inc., Chelsea, MI.
- Hammer**, D.A., Pullin, B.P., McMurry, D.K. y Lee, J.W. 1993. Testing color removal from pulp mill wastewaters with constructed wetlands. In: Moshiri, G.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Water Pollution Improvement*. CRC Press/Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 449–452.
- Hammer**, D.A. y Knight RL. 1994. Designing constructed wetlands for nitrogen removal. *Water Science and Technology* 29, 15–27.
- Hanselmann**, K.W. 1991. Microbial energetics applied to waste repositories. *Experientia* 47, 645–687.
- Hansen**, J. y Sato, M. 2004. Greenhouse gas growth rates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 16109–16114.
- Harvey**, P.J., Campella, B.F., Castro, P.M.L., Harms, H., Litchfouse, E., Schaffner, A.R., Smrcek, S.D. y Werck, R., 2002. Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols. *Environmental Science and Pollution Research International* 9, 29–47.
- He**, Q. y **Mankin**, K.R. 2002. Performance variations of COD and nitrogen removal by vegetated submerged bed wetlands. *J Am Water Resour Assoc* 38, 1679–89.
- Henriksen**, K. y **Frederiksen**, J. 1995. Método y aparato para separar purín en una fase de suspensión espesa con alto contenido de material seca y una fase acuosa con un deseado contenido en N-alto, moderado o bajo. . Patente: ES 2 070 633 T3.
- Hernández** y **Martínez**, M. 1987. Efecto del encalado sobre las características biológicas y la productividad de un suelo Ferralítico Cuarcítico Amarillo Lixiviado. III acción sobre la población microbiana del suelo. *Ciencia Agronómica* 31, 68-74.
- Herskowitz**, J., Black, S. y **Lewandowski**, W. 1987. Listowel artificial marsh treatment project. In: Reddy, K.R., Smith W.H. (Eds.), *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Magnolia Publishing Inc, Orlando, FL, pp. 247–254.
- Higgins**, M.J., Rock, C.A., Bouchard, R. y Wengrezynek, B. 1993. Controlling agricultural runoff by use of constructed wetlands. In: Moshiri, G.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 359–367.
- Hijosa-Valsero**, M., Sidrach-Cardona, R., Martín-Villacorta, J. y Bécares. E. 2010. Optimization of performance assessment and design characteristics in constructed wetlands for the removal of organic matter. *Chemosphere* 81, 651–657.
- Hiley**, P. 2003. Performance of wastewater treatment and nutrient removal wetlands. In: Mander, U., Jenssen, P. (Eds.), *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in Cold Climates, (Reedbeds) in Cold Temperature Climates*. WIT Press, Southampton, pp. 1–18.
- Hill**, D.T. y **Payton**, J.D. 1998. Influence of temperature on treatment efficiency of constructed wetlands. *Transaction of ASAE* 41(2), 393–396.
- Hill**, D.T. y **Bolte**, J.P. 2000. Methane production from low solid concentration liquid swine waste using conventional anaerobic fermentation. *Bioresource Technology* 74, 241–247.

- Hippen**, A., Rosenwinkel, K.H., Baumgarten, G. y Seyfried, C.F. 1997. Aerobic deammonification: a new experience in the treatment of wastewaters. *Water Science and Technology* 35(10), 111–120.
- Hobson**, P.N. 1990. The treatment of agricultural wastes, En *Anaerobic digestion: a waste treatment technology*. Editado por Wheatley, A. Critical reports on applied chemistry. Elsevier applied science LTD 31, 93-138.
- Hodgson**, C.J., Perkins J. y Labadz., J.C. 2004. The use of microbial tracers to monitor seasonal variations in effluent retention in a constructed wetland. *Water Research* 38, 3833–3844.
- Holmes**, B.J., Bubenzer, G.D., Massie, L.R. y Hines, G. 1994. A constructed wetland for treating mi khouse wastewater in a cold climate. Status Report. In: DuBow, P.J., Reaves, R.P. (Eds.), *Constructed wetlands for animal waste management*. Proceedings of workshop, 4–6 April 1994. Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA, pp. 53–64.
- Hong**, M.S., Farmayan, W.F., Dortch, I.J. y Chiang, C.Y. 2001. Phytoremediation of MTBE from a groundwater plume. *Environmental Science and Technology* 35, 1231–1239.
- House**, C.H., Broome, S.W. y Hoover, M.T. 1994. Treatment of nitrogen and phosphorus by a constructed upland-wetland wastewater treatment system. *Water Science and Technology* 29, 177–184.
- Howard-Williams**, C. 1985. Cycling and retention of nitrogen and phosphorus in wetlands: a theoretical and applied perspective. *Freshwater Biology* 15, 391–431.
- <http://aquat1.ifas.ufl.edu>. Consulta sobre formas de vida de plantas hidrófitas.
- <http://www.ine.es/jaxiBD/tabla.do?per=12&type=db&divi=DPOP&idtab=32>. Consulta sobre el censo de la población en Lorca.
- Huang**, J., Reneau, R.B. y Hagedorn, J.R.C. 2000. Nitrogen removal in constructed wetlands employed to treat domestic wastewater, *Water Research* 34, 2582–2588.
- Huang**, J., Wang, S.H., Yan, L. y Zhong, Q.S. 2010. Plant photosynthesis and its influence on removal efficiencies in constructed wetlands. *Ecological Engineering* 36, 1037–1043.
- Hundal**, H.S. 1988. A mechanism of phosphate adsorption on Narrabri medium clay loam soil. *Journal of Agricultural Science* 111, 155–158.
- Hunt**, P.G. y Poach, M.E. 2000. State of the art for animal wastewater treatment in constructed wetlands. In: *Proceedings of the Seventh International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*, International Water Association, Lake Buena Vista, Florida, 11–16 November, 707–718.
- Hunt**, P.G., Szogi, A.A., Humenick, F.J., Rice, J.M. y Stone, K.C. 1994. Swine wastewater treatment by constructed wetlands in the Southeastern United States. In: DuBow, P.J., Reaves, R.P. (Eds.), *Constructed wetlands for animal waste management*. Proceedings of workshop, 4–6 April 1994. Purdue University, Iowa, Lafayette, Indiana, USA, pp. 144–154.
- Iannou**, A., Dimirkou, A. y Doula, M. 1994. Phosphate sorption by calcium-bentonite as described by commonly used isotherms. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25, 2299–2313.
- Inamori**, R., Wang, Y., Yamamoto, T., Zhang, J., Kong, H., Xu, K. y Inamori, Y. 2008. Seasonal effect on N₂O formation in nitrification in constructed wetlands. *Chemosphere* 73, 1071–1077.
- Irañeta**, I., Santos, A. y Abaigar, A. 2002. Purín de porcino. ¿Fertilizante o contaminante? *Navarra Agraria* 132, 10–24.
- Itokawa**, H., Hanaki, K. y Matsuo, T., 1996. Nitrous oxide emission during nitrification and denitrification in a full-scale night soil treatment plant. *Water Science and Technology* 34, 277–284.
- IWA**, International Water Association. Specialist Group on Use of Macrophytes in Water Pollution Control, 2000. *Constructed Wetlands for Pollution Control*. Scientific and Technical Report Number 8. IWA Publishing, London, UK.
- Jadhav**, R.S. y Buchberger, S.G. 1995. Effects of vegetation on flow through free water surface wetlands. *Ecological Engineering* 5, 481–496.
- Jenssen**, P.D., Maehlum, T. y Krogstad, T., 1993. Potential use of constructed wetlands for wastewater treatment in northern environments. *Water Science and Technology* 28, 149–157.
- Jetten**, M.S.M. 2001. New pathways for ammonia conversion in soil and aquatic systems. *Plant Soil* 230, 9–19.
- Jing**, S.R. y Lin, Y.F. 2004. Seasonal effect on ammonia nitrogen removal by constructed wetlands treating river water in southern Taiwan. *Environmental Pollution* 127, 291–301.

- Junsan**, W., Yuhua, C. y Qian, S. 2000. The application of constructed wetland to effluent purification in pig plant. In: Proceedings of the 7th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, Lake Buena Vista, Florida, University of Florida, Gainesville and International Water Association, 1477–1480.
- Juwarkar**, A.S., Oke, B., Juwarkar, A. y Patnaik, S.M., 1995. Domestic wastewater treatment through constructed wetland in India. *Water Science and Technology* 32, 291–294.
- Kabas**, S., Faz, A., Acosta, J.A., Zornoza, R. Martínez-Martínez, S., Carmona, D.M. y Bech, J. 2012. Effect of marble waste and pig slurry on the growth of native vegetation and heavy metal mobility in a mine tailing pond. *Journal of Geochemical Exploration* 123, 69–76.
- Kadlec**, R.H. 1978. Wetlands for tertiary treatment. In: Proceedings of national symposium on wetlands (R E. Greeson, J. R. Clark and J. E. Clark (Eds)), Nov. 1978, Disneyworld Village, Florida, USA, pp. 490–504.
- Kadlec**, R.H. 1987. Northern natural wetland water treatment systems. In: Reddy, K.R., Smith, W.H. (Eds.), *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Magnolia Publishing Inc, Orlando, FL, pp. 83–98.
- Kadlec**, R.H. 1992. Hydrological factors in wetland water treatment. In: Hammer, D.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment: Municipal, Industrial and Agricultural*. Lewis Publishers, Chelsea(MI), USA, pp. 25–29.
- Kadlec**, R.H. y Knight, R.L. 1996. *Treatment Wetlands*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Kadlec**, R.H. 1997. Deterministic and stochastic aspects of constructed wetland performance and design. *Water Science and Technology* 35, 149–156.
- Kadlec**, R.H. 1999a. The limits of phosphorus removal in wetlands. *Wetland Ecology and Management* 7, 165–175.
- Kadlec**, R.H. 1999b. Chemical, physical and biological cycles in treatment wetlands. *Water Science and Technology* 40:37–44.
- Kadlec**, R.H. Knight, R.L. Vymazal, J. Brix, H. Cooper, P. y Haberl, R. 2000. Constructed wetlands for pollution control. In: Processes, Performance, Design and Operation. IWA Specialist Group on the Use of Macrophytes in Water Pollution Control, IWA Scientific and Technical Report No. 8, IWA Publishing, London.
- Kadlec**, R.H. y Reddy, K.R. 2001. Temperature effects in treatment wetlands. *Water Environment Research* 73(5), 543–557.
- Kadlec**, R.H. 2008a. The effects of wetland vegetation and morphology on nitrogen processing. *Ecological Engineering* 33, 126–141.
- Kadlec**, R.H. y Wallace, S.D. 2008b. *Treatment Wetlands*, Second ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton (FL), USA. 1016 pp.
- Kadlec**, R.H. y Wallace, S. 2009. *Treatment Wetlands*, second ed. CRC Press, Boca Raton.
- Karathanasis**, A.D., Potter, C.L. y Coyne M.S. 2003. Vegetation effects on fecal bacteria, BOD, and suspended solid removal in constructed wetlands treating domestic wastewater. *Ecological Engineering* 20, 157–169.
- Karathanasis**, A.D. y Thompson, Y.L. 1993. Substrate effects on metal retention and speciation in simulated acid mine wetlands. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology* 51, 421–429.
- Karpiscak**, M.M., Gerba, C.P., Watt, P.M., Foster, K.E. y Falabi, J.A. 1996. Multi-species plant systems for wastewater quality improvement and habitat enhancement. *Water Science and Technology* 33, 231–236.
- Keller**, B.E. M., Lajtha, K. y Cristofor, S. 1998. Trace metal concentration in the sediments and plants of the Danube delta, Romania. *Wetlands* 40, 42–50.
- Kickuth**, R. 1976. Degradation and incorporation of nutrients from rural waste waters by plant rhizosphere under limnic conditions. In: Utilisation of manure by land spreading, co-ordination of agricultural research, Commission of the European Community, pp. 335–43.
- Killorn**, R. y Lorimor J.C. 1999. *Managing Manure Nutrients for Crop Production*. Extension Publication Pm-1811, Iowa State University, Ames, IA.
- Kim**, S.J., Hong, S.W., Choi, Y.S., Bae, W.K. y Lee, S.H. 2007. Performance evaluation of a newly developed flow diverted bed system for stream restoration. *Process Biochemistry* 42, 199–209.
- Kjeldahl**, J. 1983. Sur une nouvelle méthode de dosage de l'azote dans les substances organiques, Résumé du compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, Copenhagen, en commission chez H. Hagerup, Imprimerie de Thiele.
- Klomjek**, P. y Nitisoravut, S. 2005. Constructed treatment wetland: a study of eight plant species under saline conditions. *Chemosphere* 58, 585–593.

- Knight**, R.L., Payne Jr., V.W.E., Borer, R.E., Clarke Jr., R.A. y Pries., J.H. 2000. Constructed wetlands for livestock wastewater management. *Ecological Engineering* 15, 41–55.
- Knowles**, P.R., Griffin, P. y Davies, P.A. 2010. Complementary methods to investigate the development of clogging within a horizontal sub-surface flow tertiary treatment wetland. *Water Research* 44, 320-330.
- Knowles**, R. 1982. Denitrification. *Annual Review of Microbiology* 46, 43–70.
- Koch**, M.S. y Erskine, J.M. 2001. Sulphide as a phytotoxin to the tropical seagrass *Thalassia testudinum*: interactions with light, salinity and temperature. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 266(1), 81–95.
- Kolthoff**, I.M., Sandell, E.B., Machan, E.J. y Bruchenstein, S. 1969. *Quantitative Chemical Analysis*, MacMillan (Ed.), New York.
- Kong**, H.N., Kimochi, Y., Mizuochi, M., Inamori, R. y Inamori, Y. 2002. Study of the characteristics of CH₄ and N₂O emission and methods of controlling their emission in the soil-trench wastewater treatment process. *Total Environment* 290, 59–67.
- Koops**, J.G., van Beusichem, M.L. y Oenema, O. 1997. Nitrous oxide production, its source and distribution in urine patches on grassland on peat soil. *Plant Soil*. 191, 57–65.
- Korkusuz**, E.A., Beklioglu, M. y Demirer G.N. 2007. Use of blast furnace granulated slag as a substrate in vertical flow reed beds: Field application. *Bioresource Technology* 98, 2089–2101.
- Kotti**, I.P., Gikas, G.D. y Tsihrantzis, V.A. 2010. Effect of operational and design parameters on removal efficiency of pilot-scale FWS constructed wetlands and comparison with HSF systems. *Ecological Engineering* 36, 862–875.
- Kozub**, D.D. y Liehr, S.K. 1999. Assessing denitrification rate limiting factors in a constructed wetland receiving landfill leachate. *Water Science and Technology* 40(3), 75–82.
- Kraft**, H. 1984. Zur Problematik der Konstruktion von Sumpfpflanzenklaeranlagen. *Korr Abwasser* 31,840-846.
- Kroodsmma**, W. 1986. Separation and removal of faeces and urine using filter nets under slatted floors in piggeries. *Journal of Agricultural Engineering Research* 34, 75-84.
- Kucuk**, O.S., Sengul, F. y Kapdan, I.K. 2003. Removal of ammonia from tannery effluents in a reed bed constructed wetland. *Water Science and Technology* 48, 179–186.
- Kuehn**, E. y Moore, J.A. 1995. Variability of treatment performance in constructed wetlands. *Water Science and Technology* 32, 241-250.
- Kufel**, I. 1991. Lead and molybdenum in reed and cattail— open versus closed type of metal cycling. *Aquatic Botany* 40, 275–288.
- Kunkel**, D., 2004. Microscopy Inc. www.ehagroup.com.
- Kuschik**, P., WieXner, A. Kappelmeyer, U., WeiXbrodt, E., Astner, M. K. y Stottmeister, U. 2003. Annual cycle of nitrogen removal by a pilot-scale subsurface horizontal flow in a constructed wetland under moderate climate. *Water Research* 37, 4236–4242.
- Lamers**, L.P.M., Tomassen, H.B.M. y Roelofs, J.G.M., 1998. Sulphate-induced eutrophication and phytotoxicity in freshwater wetlands. *Environmental Science and Technology* 32(2), 199–205.
- Langergraber**, G., Haberl R., Laber J. y Pressl A. 2003. Evaluation of substrate clogging processes in vertical flow constructed wetlands. *Water Science and Technology* 48(5), 25-34.
- Langergraber**, G., Leroch, K., Press A., Sleytr, K., Rohrhofer, R. y Haberl, R. 2009. High-rate nitrogen removal in a two-stage subsurface vertical flow constructed wetland. *Desalination* 246, 55–68.
- Lantzke**, I. R., Heritage A. D., Pistillo G. y Mitchell D. S. 1998. Phosphorus removal rates in bucket size planted wetlands with a vertical hydraulic flow. *Water Research* 32, 1280-1286.
- Larsen**, V.J. y Schierup, H.H. 1981. Macrophyte cycling of zinc, copper, lead and cadmium in the littoral zone of a polluted and a non-polluted lake. II. Seasonal changes in heavy metal content of above-ground biomass and decomposing leaves of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. *Aquatic Botany* 11, 211–230.
- Lavrov**, S. y Koumanov, B. 2010. Influence of recirculation in a lab-scale vertical flow constructed wetland on the treatment efficiency of landfill leachate. *Bioresource Technology* 101, 1756–1761.
- Le Coustumer**, S., Fletcher, T.D. Deletic, A., Barraud, S. y Poelsma, P. 2012. The influence of design parameters on clogging of stormwater biofilters: A large-scale column study. *Water Research* 46, 6743-6752.
- Lecomte**, R. 1979. The influence of agronomic application of slurry on the yield and composition of arable crops and grassland and on changes in soil properties. En: "Effluents from Livestock". Ed. Grassler 1980. Applied Science Publishers LTD (Londres) pp: 139-80.

- Lee, R.W.** 1999. Oxidation of sulphide by *Spartina alterniflora* roots. *Limnology and Oceanography* 44(4), 1155–1159.
- Lee, B.H.** y **Scholz, M.** 2007. What is the role of *Phragmites australis* in experimental constructed wetland filters treating urban runoff? *Ecological Engineering* 29, 87–95.
- Leonard, K.M.** 2000. Analysis of residential subsurface flow constructed wetlands performance in Northern Alabama. *Small Flows Quarterly* 2, 34-39
- Lesage, E.** 2006. Behaviour of Heavy Metals in Constructed Treatment Wetlands. PhD thesis. Faculty of Bioscience Engineering. Ghent University, Ghent, Belgium.
- Leverenz, H.L., Tchobanoglous, G.** y **Darby, J.L.** 2009. Clogging in intermittently dosed sand filters used for wastewater treatment. *Water Research* 43, 695-705.
- Ley 10/2001**, de 5 de julio, del Plan Hidrológico Nacional; modificada por el RDL 2/2004, de 18 de junio y la Ley 11/2005, de 22 de junio.
- Ley 16/2002**, de 1 de Julio, de prevención y control integrados de la contaminación (IPPC).
- Ley 22/1988**, de 28 de julio, de Costas; complementada por el RD 1471/1989, de 1 de diciembre por el que se aprueba su reglamento general para desarrollo y ejecución, modificado a su vez por el RD 1112/1992. Los anexos I, II y III de la ley quedan derogados por el RD 60/2011.
- Ley 22/2011**, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados, que sustituye a la Ley 10/1998, de 21 de abril de 1998, de residuos; de conformidad con el RD 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados. Directiva 2008/98/CE, de 19 de noviembre.
- Ley 29/1985** de Aguas.
- Ley 4/2009**, de 14 de mayo, de Protección Ambiental Integrada de la Región de Murcia.
- Ley 41/2010**, de 29 de diciembre, de protección del medio marino.
- Ley 9/2006**, de 28 de abril, sobre evaluación de los efectos de determinados planes y programas en el medio ambiente. Directiva 2001/42/CE, de 27 de junio.
- Ley Orgánica 5/2010**, de 22 de junio, por la que se modifica la Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre, del Código Penal. Directiva 2008/99/CE, de 19 de noviembre.
- Li, J., Wen, Y., Zhou, Q., Xingjie, Z., Li, X., Yang, S.** y **Lin, T.** 2008. Influence of vegetation and substrate on the removal and transformation of dissolved organic matter in horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 99, 4990–4996.
- Liesack, W., Schnell, S.** y **Revsbech, N.P.** 2000. Microbiology of flooded rice paddies. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews* 24, 625–645.
- Liikanen, A.** y **Martikainen, P.J.** 2003. Effect of ammonium and oxygen on methane and nitrous oxide fluxes across sediment- water interface in a eutrophic lake. *Chemosphere* 52, 1287–1293.
- Lin, Y.F., Jing, S.R., Wang, T.W.** y **Lee D.Y.** 2002. Effects of macrophytes and external carbon sources on nitrate removal from groundwater in constructed wetlands. *Environmental Pollution* 119, 413–420.
- Lin, Y.F., Jing, S.R.** Lee, D.Y., **Chang Y.F.** y **Shih K.C.** 2008. Nitrate removal from groundwater using constructed wetlands under various hydraulic loading rates. *Bioresource Technology* 99, 7504–7513.
- Lipschultz, F.**, 1981. Production of NO and N2O in soil nitrifying bacteria. *Nature* 294, 6441–6443.
- Lissner, J., Schierup, H.H., Comin, F.A.** y **Astorga, V.** 1999a. Effect of climate on the salt tolerance of two *Phragmites australis* populations. Part I: growth, inorganic solutes, nitrogen relations and osmoregulation. *Aquatic Botany* 64, 317–333.
- Lissner, J., Schierup, H.H., Comin, F.A.** y **Astorga, V.** 1999b. Effect of climate on the salt tolerance of two *Phragmites australis* populations. Part II: diurnal CO2 exchange and transpiration. *Aquatic Botany* 64, 335–350.
- Llona, M., A. Faz y Andújar, M.** 2003. Principales riesgos debido a la aplicación de purín de cerdo en el Valle del Guadalentín, Lorca-Murcia. Resultados preliminares sobre las propiedades físico-químicas del suelo. Editorial: Forum Calidad. Madrid- España. Pp. 15-666.
- Llona Carrasco, M.** 2005. Tesis doctoral: Utilización agronómica de purines de cerdo en brócoli y sandía en condiciones mediterráneas semiáridas. Influencia en el sistema suelo- planta. Pp. 374.
- Llona Carrasco, M., Faz, A.,** 2009. Contribution from Pig Slurry to Micro and Macro nutrients Status of Soil Planted with Broccoli. *Advances in Ecology* 40. Catena Verlag. Reiskirchen. Pp. 347-353.

- Lobera Lössel**, J.B. 1996. Tratamiento integral de purines de cerdo. Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y de Agua de la Región de Murcia. Pp. 61.
- Lobera Lössel**, J.B., Martínez, P., Fernández, F. y Martín, J. 1998. Reutilización agronómica de los purines de cerdo. Serie Técnica y de Estudios nº 17 de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y de Agua de la Región de Murcia 16 pp.
- Lorimor**, J.C., Zhang, R., Melvin, S.W. y Killorn T. 1997. Land Application for Effective Manure Nutrient Management. Extension Publication Pm-1599, Iowa State University, Ames, IA.
- Lorimor**, J., Fulhage, C., Zhang, R., Funk T., Sheffield, R., Sheppard, D. y Newton, G.L. 2006. Manure management strategies and technologies. In Animal Agriculture and the Environment: National Center for Manure and Animal Waste Management White Papers. American Society of Agricultural and Biological Engineers, St. Joseph, MI, USA.
- Lucía**, T., Curt, M.D. y Fernández, J. 2005. Estudio de la tolerancia de diversas especies de macrofitas acuáticas al NaCl en solución. Pp. 255-260.
- Ma**, X. y Burken, J.G. 2003. TCE diffusion to the atmosphere in phytoremediation applications. Environmental Science and Technology 37, 2534–2539.
- MAAMA**. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Consulta realizada en 2013. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. www.magrama.gob.es/. Resultado de la encuesta nacional de porcino. Noviembre 2011. <http://publicacionesoficiales.boe.es/> Consulta realizada en 2013.
- Macherey-Nagel GmbH & Co. KG**. Neumann-Neander-Str. 6-8. D-52355 Dueren (Alemania).
- Maddison**, M. y Mander U. 2005. Dynamics of *Typha latifolia* population in a free water surface flow constructed wetland in Estonia. Encuentro Internacional en Fitodepuración Lorca (Murcia- España). Pp. 32-37.
- Maehlum**, T. y Stalnacke P. 1999. Removal efficiency of three cold climate constructed wetlands treating domestic wastewater: effects of temperature, seasons, loading rates and input concentration. Water Science and Technology 40, 273–81.
- Maine**, M.A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G. y Bonetto, C. 2009. Influence of vegetation on the removal of heavy metals and nutrients in a constructed wetland. Journal of Environmental Management 90, 355-363.
- Mander**, U., Kuusemets, V., Oovel, M., Ihme, R., Sevola, P. y Pieterse, A. 2000. Experimentally constructed wetlands for wastewater treatment in Estonia. Journal of Environmental Science and Health, Part A 35, 1389–401.
- Mandi**, L., Tiglyene, S. y Jaouad, A. 2005. Eliminación del Cromo de las aguas residuales de la curtiduría mediante infiltraciones verticales de *Phragmites australis*. Pp. 81-86.
- Mann**, R.A. 1990. Phosphorus removal by constructed wetlands: substratum adsorption. In: Cooper, P.F., Findlater, B.C. (Eds.), Constructed Wetlands in Water Pollution Control: Advances in Water Pollution Control. Pergamon Press, Oxford, pp. 97–105.
- Mann**, R.A. y Bavor, H.J. 1993. Phosphorus removal in constructed wetlands using gravel and industrial waste substrata. Water Science and Technology 27, 107–113.
- Mansy**, A.E. y El-Bestway, E. 2002. Toxicity and biodegradation of fluometuron by selected cyanobacterial species. World Journal of Microbiology and Biotechnology 18, 125-131.
- Marchello**, G.B. 2007. Sistema artificial de fitopurificación. Patente: ES 2 283 587 T3.
- Martín**, I. 1989 Depuración de aguas con plantas emergentes. Hojas Divulgadoras nº 16/89 del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General de Estructuras Agrarias. 24 pp.
- Martín**, C.D. y Johnson, K.D., 1995. The use of extended aeration and in-series surface flow wetlands for landfill leachate treatment. Water Science and Utilization 32, 119– 128.
- Martínez** J. y Hao X. 1996. A field treatment plant for pig slurry. Water Science and Technology 34(11), 87-92.
- Martínez-Almela**, J. y Barrera, J.M. 2005. SELCO-Ecopurin® pig slurry treatment system. Bioresource Technology 96, 223–228.
- Martínez-Alonso**, M. y Gaju N. 2005. El papel de los tapetes microbianos en la biorrecuperación de zonas litorales sometidas a la contaminación por vertidos de petróleo. Ecosistemas 14(2), 79-91.
- Martínez-Pagan**, P. 2006. Aplicación de diferentes técnicas no destructivas de prospección geofísica a problemas relacionados con contaminación ambiental producida por diferentes actividades antrópicas en la Región de Murcia. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena. 476 pp.

- Martínez-Pagán, P.**, Faz, A., Acosta, J.A., Carmona, D.M. y Martínez-Martínez, S. 2011. A multidisciplinary study for mining landscape reclamation: A study case on two tailing ponds in the Region of Murcia (SE Spain). *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* 36(16), 1331-1344.
- Martínez-Pagán, P.**, Gómez-Ortiz, D., Martín-Crespo, T., Manteca, J.I. y Rosique M. 2013. The electrical resistivity tomography method in the detection of shallow mining cavities. A case study on the Victoria Cave, Cartagena (SE Spain). *Engineering Geology*, 156, 1-10.
- Mashauri, D.A.**, Mulungu, D.M.M. y Abdulhussein, B.S. 2000. Constructed wetland at the university of Dar Es Salaam. *Water Research* 34, 1135–1144.
- Massé, D.**, Gilbert Y. y Topp E., 2010. Pathogen removal in farm-scale psychrophilic anaerobic digesters processing swine manure. *Bioresource Technology*. doi:10.1016/j.biortech.2010.08.020.
- Mays, P.A.** y Edwards, G.S. 2001. Comparison of heavy metal accumulation in a natural wetland and constructed wetlands receiving acid mine drainage. *Ecological Engineering* 16, 487–500.
- Mc Elroy, M.B.**, Elkins, J.W., Wofsy, S.C., Kobb, C.E., Duran, A.P. y Kaplan, W.A. 1978. Production and release of N_2O from Potomac estuary. 23, 1168–1182.
- Meeus-Verdinne, K.**, Neirinx, G., Monseur, X. y De Borger R. 1979. Real or potential risk of pollution of soil, crops, surface and groundwater due to landspreading of liquid manure. En: "Effluents from Livestock". Ed. Grassler 1980. Applied Science Publishers LTD (Londres) pp: 399-408.
- Melse, R.W.** y Verdoes, N. 2005. Evaluation of four farmscale systems for the treatment of liquid pig manure. *Biosystems Engineering*, 92(1), 47–57.
- Merlin, G.**, Pajean, J.L. y Lissolo, T. 2002. Performances of constructed wetlands for municipal wastewater treatment in rural mountainous areas. *Hydrobiologia* 469, 87-98.
- Metcalf y Eddy**. 1995. Ingeniería de aguas residuales. Mc Graw Hill. 3ª Edición. 434 pp.
- Metcalf y Eddy**, revised by Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H.D. 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. fourth ed. McGraw-Hill, Boston, USA, pp. 611–616.
- Mitchell, L.K.** y Karathanasis, A.D. 1995. Treatment of metalchloride- enriched wastewater by simulated constructed wetlands. *Environmental Geochemistry and Health* 17, 119–126.
- Molina-Grima, E.** 1999. Microalgae mass culture methods. In: Flickinger, M.C., Drew, S.W. (Eds.), *Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation*. John Wiley.
- Molinuevo-Salces, B.**, García-González, M.C. y González-Fernández, C. 2010. Performance comparison of two photobioreactors configurations (open and closed to the atmosphere) treating anaerobically degraded swine manure. *Bioresource Technology* 101, 5144–5149.
- Molleda, P.**, Ansola, G. y de Luis, E. 2005. Análisis microbiológico de las aguas residuales tratadas por un humedal artificial de tipo MJEa® en León. Pp. 211-215.
- Møller, H.B.**, Lund, I. y Sommer S.G. 2000. Solid-liquid separation of livestock slurry: efficiency and cost. *Bioresource Technology* 74, 223-229.
- Møller, H.B.**, Sommer S.G. y Ahring B.K. 2002. Separation efficiency and particle size distribution in relation to manure type and storage conditions. *Bioresource Technology* 85(2), 189-196.
- Møller, H.B.**, Sommer, S.G. y Ahring, B.K. 2004. Methane productivity of manure, straw and solid fractions of manure. *Biomass Bioenergy* 26, 485–495.
- Monge, E.**, Ferrer, M. y Orús, F. 2001. Análisis físico-químico de estiércoles fluidos. I.- Materia orgánica y estimación del humus aportado. *Anaporc* 88-100.
- Monroy, F.**, Aira M. y Domínguez J. 2009. Reduction of total coliform numbers during vermicomposting is caused by short-term direct effects of earthworms on microorganisms and depends on the dose of application of pig slurry. *Science of the Total Environment* 407, 5411–5416.
- Moral, R.**, Pérez-Murcia, M.D., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J. y Paredes, C. 2005. Estimation of nutrient values of pig slurries in Southeast Spain using easily determined properties. *Waste Management* 25, 719–725.
- Morató, J.**, Salcedo, I., Codony, F., Delgado, S., García, J. y Bayona, J.M. 2005. Eliminación de microorganismos y dinámica del biofilm en humedales construidos de flujo subsuperficial. Pp. 54-59.
- Morel, C.**, Cachot, C., Martínez, J., Peu, P., Elsass, F., Robert, M. y Fardeau, J.-C. 2004. Evolution sur 12 ans de la solubilité, mobilité et lixiviation du phosphate dans un sol ayant massivement reçu du lisier. *Etude et gestion des sols* 11(4) 403–418.

- Mulbry, W.**, Kebede-Westhead, E., Pizarro, C. y Sikora, L. 2005. Recycling of manure nutrients: use of algal biomass from dairy manure treatment as a slow release fertilizer. *Bioresource Technology* 96, 451–458.
- Mulbry, W.**, Kondrad, S., Pizarro, C. y Kebede-Westhead, E. 2008. Treatment of dairy manure effluent using freshwater microalgae: algal productivity and recovery manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. *Bioresource Technology* 99(17), 8137–8142.
- Mungur, A.S.**, Shutes, B.E., Revitt, D.M. y House, M.A. 1995. An assessment of metal from highway runoff by natural wetland. *Water Science and Technology* 32, 169–175.
- Muñoz, M.J.** y Díez, J.A. 1999. Valoración experimental de la aplicación de purines en campo. *Porci*, núm. 50, p. 37-51.
- Muñoz, P.**, Drizo, A. y Hession, W.C. 2006. Flow patterns of dairy wastewater constructed wetlands in a cold climate. *Water Research*, 40, 3209-3218.
- Muñoz, R.**, Köllner, C., Guieysse, B. y Mattiasson, B. 2004. Photosynthetically oxygenated salicylate biodegradation in a continuous stirred tank photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 87(6), 797–803.
- Muñoz, R.**, Köllner, C., Guieysse, B. y Mattiasson, B., 2003. Salicylate biodegradation by various algal–bacterial consortia under photosynthetic oxygenation. *Biotechnology Letters* 25(22), 1905–1911.
- Murcia, A.J.** 2003a. Principales riesgos derivados de la aplicación de purines en el Valle del Guadalentín, Lorca. Proyecto fin de carrera, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica. Universidad Politécnica de Cartagena.
- Murcia, J.F.** 2003b. Utilización del purín para fertilización en cultivo de brócoli y su comparación con la fertilización química convencional. Proyecto fin de carrera, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica. Universidad Politécnica de Cartagena.
- Murray-Gulde, C.L.**, Bearn, J. y Rodgers, J.H. 2005. Evaluation of a constructed wetland treatment system specifically designed to decrease bioavailable copper in a wastestream. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61, 60–73.
- Mustafa, A.**, Scholz M., Harrington R. y Carroll P. 2009. Long-term performance of a representative integrated constructed wetland treating farmyard runoff. *Ecological Engineering* 35, 779–790.
- MWPS.** 1985. *Livestock Waste Facilities Handbook*, 2nd Edn. MWPS-18, Midwest Plan Services, Ames, IA.
- Navarro, S.** y Navarro, G. 2000. *Química Agrícola. El Suelo y los Elementos Químicos Esenciales para la Vida*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, 488 pp.
- Navés, J.** y Torres C. 1994. Composición química media de los purines de cerdo en función del tipo de explotación: Plan Piloto de Purines. En: “Manual de gestión de purines y de su reutilización agrícola”.
- Ndegwa, P.M.**, Zhu J. y Luo A. 2002. Stratification of solids, nitrogen and phosphorus in swine manure in deep pits under slatted floors. *Bioresource Technology* 83(3), 203–211.
- Ndegwa, P.M.** y Zhu J. 2003. Sampling Procedures for Piggery Slurry in Deep Pits for Estimation of Nutrient Content. *Biosystems Engineering* 85 (2), 239–248.
- Neralla, S.**, Weaver, R.W., Lesikar, B.J. y Persyn, R.A. 2000. Improvement of domestic wastewater quality by subsurface flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 75, 19–25.
- Netter, R.** 1992. The purification efficiency of planted soil filters for wastewater treatment. *Water Science and Technology* 26, 2317-2320
- Newman, J.M.**, Clausen, J.C., Neafsey, J.A. 2000. Seasonal performance of a wetland constructed to process dairy milkhouse wastewater in Connecticut. *Ecological Engineering* 14, 181–198.
- Newman, L.A.**, Doty, S., Gery, K.L., Heilman, P.E., Muizniek, I.E., Shang, T.Q., Siemienieć, S.T., Strand, S.E., Wang, X.E., Wilson, A.M. y Gordon, M.P. 1998. Phytoremediation of organic contaminants: a review of phytoremediation research at the University of Washington. *Journal of Soil Contamination* 7, 531–542.
- Newman, L.A.** y Reynolds, C.M. 2004. Phytodegradation of organic compounds. *Current Opinion in Biotechnology* 15, 225–230.
- Nichols, D.S.** 1983. Capacity of natural wetlands to remove nutrients from wastewater. *Journal Water Pollution Control Federation* 55, 495–505.
- Nicholson, F.A.**, Chambers B.J., Williams J.R. y Unwin R.J. 1999. Heavy metal contents of livestock feeds and animal manures in England and Wales. *Bioresource Technology* 70: 23-31.
- Nivala, J.**, Knowles, P., Dotro, G., García, J. y Wallace, S. 2012. Clogging in subsurface-flow treatment wetlands: Measurement, modeling and management. *Water Research*. 46, 1625-1640.
- Nur Onar, A.**, Balkaya, N. y Akyuz, T. 1996. Phosphate removal by adsorption. *Environmental Technology* 17, 207–213

- Oficina Internacional del Agua.** 2001. Guía de procesos extensivos de depuración de las aguas residuales adaptadas a las pequeñas y medias colectividades. Luxemburgo, Oficina de las publicaciones oficiales de las comunidades europeas. 40 pp.
- Omari, K., Revitt, M., Shutes, B. y Garelick, H.,** 2003. Hydrocarbon removal in an experimental gravel bed constructed wetland. *Water Science and Technology* 48(5), 275– 281.
- Orden de 12 de noviembre de 1987,** sobre normas de emisión, objetivos de calidad y métodos de medición de referencia relativos a determinadas sustancias nocivas o peligrosas contenidas en los vertidos de aguas residuales. Derogada completamente por el RD 60/2011 a partir del 22 de diciembre de 2012.
- Orden de 19 de diciembre de 1989,** por la que se dictan normas para la fijación en ciertos supuestos de valores intermedios y reducidos de coeficiente K, que determinan la carga contaminante del canon de vertido de aguas residuales.
- Orden de 20 de diciembre de 2001,** por la que se designan las zonas vulnerables (Campo de Cartagena) a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia; complementada por la Orden de la Consejería de Agricultura de 3 de marzo de 2009, por la que se establece el programa de actuación sobre la zona vulnerable correspondiente a los acuíferos cuaternario y plioceno en el área definida por zona regable oriental del trasvase Tajo-Segura y el sector litoral del Mar Menor; modificada por la Orden de 27 de junio de 2011, de la Consejería de Agricultura y Agua.
- Orden de 22 de diciembre de 2003,** por la que se designan las zonas vulnerables (Vega Alta y Media del Río Segura) a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia;
- Orden de 26 de junio de 2009,** de la Consejería de Agricultura y Agua por la que se designa la zona vulnerable a la contaminación por nitratos de Valle del Guadalentín, en el término municipal de Lorca; complementada por el programa de actuación desarrollado por la Orden de 27 de junio de 2011.
- Orden de 27 de junio de 2011,** de la Consejería de Agricultura y Agua. Programa de actuación sobre la zona vulnerable correspondiente a los acuíferos de las Vegas Alta y Media de la cuenca de Río Segura
- Orden de 31 de marzo de 1998** de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua por el que se aprueba el Código de Buenas Prácticas Agrarias de la Región de Murcia; complementado por la Orden de 3 de diciembre de 2003, de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, por la que se aprueba el Código de Buenas Prácticas Agrarias de la Región de Murcia.
- Orden de 31 de octubre de 1989,** por la que se establecen normas de emisión, objetivos de calidad, métodos de medición de referencia y procedimientos de control relativos a determinadas sustancias peligrosas contenidas en los vertidos desde tierra al mar. Quedan derogadas las secciones B y C de los anexos II al XVI, y sección D de los anexos II al XII. Derogada por completo por el RD 60/2011 a partir del 22 de diciembre de 2012.
- Orden de la Consejería de Agricultura de 19 de noviembre de 2008,** por la que se establece el programa de actuación sobre la zona vulnerable correspondiente a los acuíferos de las Vegas Alta y Media de la cuenca de Río Segura; modificada por la
- Orden MAM/1873/2004,** de 2 de junio, por la que se aprueban los modelos oficiales para la declaración de vertido. Directiva 80/68/CEE, de 17 de diciembre derogada por la Directiva 2006/118/CE en 22/12/2013. Directiva 2000/60/CE, de 23 de octubre. Decisión 2455/2001/CE. DMA 2013.
- Orden MAM/304/2002,** de 8 de febrero, por la que se publican las operaciones de valorización y eliminación de residuos y la lista europea de residuos. Decisión 2000/532/CE, de 3 de mayo desarrollado por Decisiones 2001/118, 2001/118 y 2001/576/CE.
- Orden MAM/3207/2006,** de 25 de septiembre, por la que se aprueba la instrucción técnica complementaria MMA-EECC-1/06, determinaciones químicas y microbiológicas para el análisis de las aguas.
- Orden MAM/85/2008,** de 16 de enero, por la que se establecen los criterios técnicos para la valoración de los daños al dominio público hidráulico y las normas sobre toma de muestras y análisis de vertidos de aguas residuales.
- Orden MAM/985/2006,** de 23 de marzo, por la que se desarrolla el régimen jurídico de las entidades colaboradoras de la administración hidráulica en materia de control y vigilancia de calidad de las aguas y de gestión de los vertidos al dominio público hidráulico.
- Orús, F., Quilez, D. y Beltrán, J.** 2000. El código de buenas prácticas agrarias (I). Fertilización nitrogenada y contaminación por nitratos. *Informaciones Técnicas* 93, 1-39.
- Oswald, W.J., Gotaas, H.B. y Golueke, C.G.** 1957. Algae in wastewater treatment. *Sewage Ind. Wastes* 29(4), 437–455.

- Overmann, J.** y van Gernerden, H. 2000. Microbial interactions involving sulfur bacteria: implications for the ecology and evolution of bacterial communities. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews* 24, 591–599.
- Paarmann, W.** 1984. Was kann beim Einsatz hoeherer Pflanzen zur Abwasserreinigung erwartet werden. *Korr. Abwasser*, 31, 609-13.
- Pain, B.F.,** Hephherd, R.Q. y Pittman, R.J. 1978. Factors affecting the performances of four slurry separating machines. *Journal of Agricultural Engineering Research* 23, 231-242.
- Pardue, J.H.** 2002. Remediating chlorinated solvents in wetlands: Natural processes or an active approach? In: Nehring, K.W., Brauning, S.E. (Eds.), *Wetlands and Remediation II. Proceedings of the Second International Conference on Wetlands & Remediation*, Burlington(VT), September 5–6, 2001. Batelle Press, Columbus(OH), USA, pp. 1–8.
- Paré, T.,** Dinel, H. y Schnitzer, M. 1999. Extractability of trace metals during co-composting of biosolids and municipal solid wastes. *Biology and Fertility of Soils* 29, 31–37.
- Pastor, R.,** Benqlilou, C., Paz, D., Cardenas, G., Espuña, A. y Puigjaner L. 2003. Design optimisation of constructed wetlands for wastewater treatment. *Resources, Conservation and Recycling* 37, 193-204.
- Pedersen, O.,** Binzer, T. y Borum, J. 2004. Sulphide intrusion in eelgrass (*Zostere marine* L.). *Plant, Cell and Environment* 27, 595–602.
- Pedescoll, A.,** Corzo, A., Álvarez, E., García, J. y Puigagut, J. 2011. The effect of primary treatment and flow regime on clogging development in horizontal subsurface flow constructed wetlands: An experimental evaluation. *Water Research* 45, 3579-3589.
- Pedescoll, A.,** Sidrach-Cardona, R., Sánchez, J.C., Carretero, J., Garfi, M. y Bécares, E. 2013. Design configurations affecting flow pattern and solids accumulation in horizontal free water and subsurface flow constructed. *Water Research* 47, 1448-1458.
- Pérez Pardo, J.L.** y García Ribera, D. 2009. Procedimiento para la descontaminación de residuales líquidos de alta carga orgánica y nitrogenada. Patente: ES 2 323 211 A1.
- Pérez-Olmedilla, M.** y Rojo C. 2000. Función depuradora de los humedales. I: una revisión bibliográfica sobre el papel de los macrófitos. *Boletín SEHUMED* 14, 115-9.
- Peters, J.,** Combs, S.M., Hoskins, B., Jarman, J., Kovar, J.L., Watson, M.E., Wolf, A.M. y Wolf, N. 2003. Recommended Methods of Manure Analysis. University of Wisconsin-Extension, U.S. Department of Agriculture and Wisconsin countries cooperating. 57 pp.
- Petkov, G.S.,** Kostadinova, G.S., Denev, S.A., Mihaylova, G.S. y Pavlov, D.C. 2006. Microbial pollution of soil around slurry storage lagoons at a pig-farm. *Applied Soil Ecology* 34. Pp. 10–18.
- Peverly, J.H.,** Surface, J.M. y Wang, T. 1995. Growth and trace metal absorption by *Phragmites australis* in wetlands constructed for landfill leachate treatment. *Ecological Engineering* 5, 21–35.
- Piccinini, S.** y Bortone G. 1991. The fertilizer value of agricultural manure: simple rapid methods of assessments. *Journal of Agricultural Engineering Research* 49, 197–208.
- Piñeiro, C.** 1998. Gestión de purines en zonas de producción de alta densidad. *Anaporc Abril*, 98-108.
- Piva, G.,** Prandini A. y Mortiacchini M. 1993 La alimentación como medio para reducir la acción contaminante de las deyecciones porcinas. En: "Residuos ganaderos". Fundación "La Caixa". Barcelona. Pp. 119-29.
- Plaza, C.** 2002. Aprovechamiento agrícola del purín de cerdo en agroecosistemas semiáridos: efectos sobre suelos y plantas. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Poach, M.E.,** Hunt, P.G., Reddy, G.B., Stone, K.C., Johnson, M.H. y Grubbs, A. 2004. Swine wastewater treatment by marsh–pond–marsh constructed wetlands under varying nitrogen loads. *Ecological Engineering* 23, 165–175.
- Poach, M.E.,** Hunt, P.G., Reddy, G.B. Stone, K.C., Johnson, M.H. y Grubbs A. 2007. Effect of intermittent drainage on swine wastewater treatment by marsh–pond–marsh constructed wetlands. *Ecological Engineering* 30, 43–50.
- Pomares, F.,** 1998. Los residuos orgánicos utilizables en la agricultura: origen, composición y características. 4º Curso de Ing. Ambiental. Lleida.
- Pomares, F.** y Canet, R. 2001. Residuos orgánicos utilizables en agricultura: origen, composición y características. En: *Aplicación agrícola de residuos orgánicos*. J. Boixadera y M.R. Teira (eds.). Servei de Publicacions. Universitat de Lleida. Pp. 1-15.
- Pons Ballbé, R.** 2006. Procedimiento para la depuración de purines. Patente: ES 2 223 295 B1.

- Pope, E.R.** 1981. Wastewater treatment by rooted aquatic plants #z sand and gravel trenches. USA Environmental Protection Agency, Ohio, USA, 16 pp.
- Poth, M. y Focht, D.D.** 1985. N kinetic analysis of N₂O production by Nitrosomonas. Europaea an examination of nitrifier denitrification. *Applied and Environmental Microbiology* 49, 1134–1141.
- Potter, C.L. y Karathanasis, A.D.,** 2001. Vegetation effects on the performance of constructed wetlands treating domestic wastewater. *Proceedings of Ninth National Symposium on Individual and Small Community Sewage Systems*, ASAE, Fort Worth, TX, March 2001, pp. 663-673.
- Prat, I.** 1995. Manual de gestió dels purins i de la seva reutilització agrícola. Generalitat de Catalunya. Departament de Medi Ambient i Departament d'Agricultura, Ramaderia i Pesca. 128 p.
- Pratt, C., Shilton, A. Haverkamp, R.G. y Pratt, S.** 2009. Assessment of physical techniques to regenerate active slagfilters removing phosphorus from wastewater. *Water Research* 43, 277–282.
- Prescott, L., Harley, J.P. y Klein DA.** 1999. Los ambientes marinos y de agua dulce. En: Prescott, L., Harley, J.P., Klein DA. *Microbiología*. McGrawHill Interamericana de España S.S.U. Madrid (España), pp. 887-916.
- Prescott, L.M., Harley, J.P. y Klein, D.A.,** 2002. *Microbiology*. Fifth ed. McGraw-Hill, New York, (USA), pp. 193–194.
- Pride, R.E., Nohrstedt, J.S. y Benefield, L.D.** 1990. Utilization of created wetlands to upgrade small municipal wastewater treatment systems. *Water, Air and Soil Pollution* 50, 371–385.
- PROYTEC 20 SL.** 1995. Tratamiento de residuos ganaderos. Comunicación personal.
- Puigagut, J., Salvadó, H. y García J.** 2005. Cambios en la comunidad de microfauna en humedales construidos atendiendo al tipo de materia orgánica administrada. Pp. 61- 66.
- Puigagut, J., Vilaseñor, J., Salas, J.J., Béceras, E. y García J.** 2007. Subsurface-flow constructed wetlands in Spain for the sanitation of small communities: a comparative study. *Ecological Engineering* 30, 312–9.
- Pulz, O.** 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57, 287–293.
- Radwan, S.S., Sorkhoh, N.A., Fardoun, F. y Al-Hasan, R.H.** 1995. Soil management enhancing hydrocarbon degradation in the polluted Kuwaitii desert. *Applied Microbiology and Biotechnology* 44, 265-270.
- Raghoebarsing, A.A., Arjan, P., van de Pas-Schoonen, K.T., Smolders, A.J.P., Ettwig, K.F., Rijpstra, W.I.C., Schouten, S., Sinninghe Damste, J.S., Op den Camp, H.J.M., Jetten, M.S.M. y Strous, M.** 2006. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature* 440, 918–921.
- Raghukumar, C., Vipparthy, V., David, J.J. y Chandramohan, D.** 2001. Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57, 433-436.
- Raunkier, C.** 1934. *The life forms of plants and statistical geography*. Clarendon, Oxford, 632p.
- Real Decreto 824/2005**, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes.
- Real Decreto 1310/1990**, de 29 de octubre, que regula la utilización de lodos de depuradora; desarrollada por la Orden de 26 de octubre de 1993 sobre utilización de lodos de depuradora en agricultura. Directiva 86/278/CEE, de 12 de junio.
- Real Decreto 1315/1992**, de 30 de octubre y por RD 606/2003, de 23 de mayo, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico.
- Real Decreto 1429/2003**, de 21 de noviembre, por el que se regulan las condiciones de aplicación del Reglamento CE 1774/2002, en materia de subproductos de origen animal no destinados al consumo humano; de conformidad con el Real Decreto 1131/2010, de 10 de septiembre, por el que se establecen los criterios para el establecimiento de las zonas remotas a efectos de eliminación de ciertos subproductos animales no destinados a consumo humano generados en las explotaciones ganaderas. Reglamento 1774/2002, de 3 de octubre desarrollada por el Reglamento 808/2003 y la Decisión 13 mayo 2003.
- Real Decreto 1514/2009**, de 2 de octubre, por el que se regula la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro. Directiva 2006/118/CE, de 12 de noviembre.
- Real Decreto 1664/1998**, de 24 de julio, por la que se aprueban los planes hidrológicos de cuenca.
- Real Decreto 258/1989**, de 10 de marzo, por el que se establece la normativa general sobre vertidos de sustancias peligrosas desde tierra al mar.
- Real Decreto 261/1996**, de 16 de febrero, relativo a la protección contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias.

- Real Decreto 324/2000**, de 3 de marzo, por el que se establecen las normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas, modificado por el Real Decreto 3483/2000 de 29 de diciembre.
- Real Decreto 60/2011**, a partir del 22 de diciembre de 2012. El anexo I quedará derogado completamente en la normativa general sobre vertidos de sustancias peligrosas desde tierra al mar. Directiva 76/464/CEE desarrollada por 86/280/CEE y derogada por la Directiva 2006/11/CE, de 15 de febrero.
- Real Decreto 60/2011**, de 21 de enero, sobre normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas. Directiva 2008/105/CE, de 16 de diciembre.
- Real Decreto 849/1986**, de 11 de abril, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico.
- Real Decreto 865/2010**, de 2 de julio, sobre sustratos de cultivo.
- Real Decreto 907/2007**, de 6 de julio, por el que se aprueba el Reglamento de la Planificación Hidrológica. Queda derogado el artículo 26.6. El anexo IV quedará derogado por el RD 60/2011 a partir del 22 de diciembre de 2013.
- Real Decreto 949/2009**, de 5 de junio, por el que se establecen las bases reguladoras de las subvenciones estatales para fomentar la aplicación de los procesos técnicos del Plan de biodigestión de purines; modificado por el RD 1255/2010 y complementado por la Orden ARM/1840/2010.
- Real Decreto Legislativo 1/2008**, de 11 de enero, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Evaluación de Impacto Ambiental de proyectos; modificado por la Ley 6/2010 de 24 de marzo. Directiva 85/337/CEE desarrollada por la Directiva 97/11/CE y derogada por la Directiva 2011/92/UE, de 13 de diciembre.
- Real Decreto Ley 1/2001**, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas; modificado por el RDL 4/2007, de 13 de abril y por el RD 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas; y complementada por el RDL 12/2011, de 26 de agosto.
- Real Decreto Ley 11/1995**, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas; desarrollado por el RD 509/1996, de 15 de marzo; el cual se modifica en última instancia por el RD 2116/98, de 2 de octubre. Directiva 91/271/CEE, de 21 de mayo desarrollada por la Directiva 98/15/CE, de 27 de febrero.
- Reaves, R.P., DuBow, P.J. y Miller, B.K.** 1994. Performance of a constructed wetland for dairy waste treatment in Lagrange County, Indiana. In: DuBow, P.J., Reaves, R.P. (Eds.), Constructed wetlands for animal waste management. Proceedings of workshop, 4–6 April 1994. Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA, pp. 43–53.
- Reddy, K.R. y Patrick W.H.** 1984. Nitrogen transformations and loss in flooded soils and sediments. *Critical Reviews in Environmental Control*, 13, 273-309.
- Reddy, K.R. y D' Angelo, E.M.** 1997. Biogeochemical indicators to evaluate pollutant removal efficiency in constructed wetlands. *Water Science and Technology* 35(5), 1–10.
- Reed, S.C. y Brown, D.S.** 1992. Constructed wetland design—the first generation. *Water Environment Research* 64, 776–781.
- Reed, S. C. Crites R. W. y Middlebrooks, E. J.** 1994. *Natural Systems for Waste Management and Treatment*, 2nd ed. McGraw-Hill Inc, New York, NY.
- Reed, S.C. y Brown D.** 1995. Subsurface flow wetlands—a performance evaluation. *Water Environment Research* 67, 244–8.
- Reilly, J.F., Horne, A.J. y Miller, C.D.** 2000. Nitrate removal from a drinking water supply with large free-surface constructed wetlands prior to groundwater recharge. *Ecological Engineering* 14, 33–47.
- Reimann, W. y Potsdam, M.S.** 1991. Fest-flussig-trennung anaerob behandelte Gülle. *Landtechnik* 46, 11-91.
- Resolución de 25 de mayo de 1998**, por la que se declaran las “zonas sensibles”, en las cuencas hidrográficas intercomunitarias. Complementada por la Resolución de 24 de marzo de 2011 y la Resolución de 30 de junio de 2011.
- Rexillus, R. y Rüprich, W.** 1989. Feststoffabtrennung aus Flüssigmist. *Landtechnik* 9, 331-333.
- Richardson, C.J. y Marshall, P.E.** 1986. Processes controlling movement, storage, and export of phosphorus in a fen peatland. *Ecological Monographs* 56, 279–302.
- Rico, J.L., García, H., Rico, C. y Tejero, I.** 2007. Characterisation of solid and liquid fractions of dairy manure with regard to their component distribution and methane production. *Bioresource Technology* 98, 971–979.
- Risgaard-Petersen, N., Nicolaisen, M.H., Revsbech, N.P. y Lomstein, B.A.** 2004. Competition between ammonia-oxidizing bacteria and benthic microalgae. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 5528–5537.

- Ritter**, L., Solomon, K.R., Forget, J., Sterneroff, M. y O'Leary, C. 1995. A Review of Selected Persistent Organic Pollutants: DDT, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Chlordane, Heptachlor, Hexachlorobenzene, Mirex, Toxaphene, Polychlorinated biphenyls, Dioxins and Furans. IPCS report PCS/95.39. International Programme on Chemical Safety (IPCS) within the framework of the Inter-Organization Program for the Sound Management of Chemicals (IOMC), 43 pp.
- Rivera**, F., Warren, A., Ramírez, E., Decamp, O., Bonilla, P., Gallogos, E., Calderón, A. y Sánchez, J.T. 1995. Removal of pathogens from wastewaters by the root zone method (RZM). *Water Science and Technology* 32, 211-218.
- Robertson**, L.A. y Kuenen, J.G. 1990. Combined heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in thiosphaera-pantotropha and other bacteria. *Anton. Van Leeuw.* 57, 139–152.
- Robertson**, L.A., Niel, E.W.J., Torremans, R.A.M. y Kuenen, J.G. 1988. Simultaneously nitrification and denitrification in aerobic chemostat cultures of *Thiosphaera pantotropha*. *Environmental Microbiology* 54, 2812–2818.
- Roca Enrich**, R. 2005. Procedimiento para el tratamiento del efluente procedente del tratamiento biológico de un residuo líquido. Patente: ES 2 194 583 A1.
- Ros**, M., García, C. y Hernández, T. 2006. A full-scale study of treatment of pig slurry by composting: Kinetic changes in chemical and microbial properties. *Waste Management* 26, 1108–1118.
- Rosales**, R.M., Martínez-Pagán, P. y Faz Cano, A. 2012. Methodology for the detection of contamination by hydrocarbons and further soil sampling for volatile and semi-volatile organic enrichment in former petrol stations, SE Spain *Eurasian Journal of Soil Science* 1, 10–15.
- Rufete**, B., Pérez-Murcia, M.D., Pérez-Espinosa, A., Moral, R. Moreno-Caselles, J. y Paredes C. 2006. Total and faecal coliform bacteria persistence in a pig slurry amended soil. *Livestock Science.* 102, 211–215.
- Rydberg**, T. 2006. Life Cycle Assessment (LCA) and Cost-Benefit Analysis (CBA). Technical Workshop on Manure Processing. Brussels, 6-7 November. Organized by European Commission, DG-Environment and WUR. En: <http://forum.europa.eu.int/Public/irc/env/manure_processing/home> [Consulta: 18 de noviembre de 2006].
- Salas**, J.J., Pidre J.R. y Cuenca I. 2005. Investigaciones sobre humedales artificiales en la planta experimental de Carrión de los Céspedes (Sevilla). Pp. 89-94.
- Sánchez**, M. 2001. Utilización agrícola del estiércol licuado de ganado porcino: método rápido de determinación del valor fertilizante. Establecimiento de bases para el diseño de un óptimo plan de fertilización. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid.
- Sánchez**, M. y González, J.L. 2005. The fertilizar value of pig slurry. I. Values depending on the type of operation. *Bioresource Tecnology* 96, 1117-11123.
- Sánchez-García**, P., Caballero-Lajarán A., Faz A. y Lobera Lössel J.B. 2010. A pig slurry purification option: constructed wetland. 14th Ramiran Internacional Conference. Lisboa, Portugal.
- Sánchez-García**, P. 2012. Depuración de purines de cerdo mediante combinación de separación física, bioaireación y humedales artificiales. Memoria final de la beca asociada a la realización de proyectos en I+D, innovación y transferencia de tecnología. Referencia 1843/BPS/11. 34 pp.
- Sawyer**, C.N. y McCarty P. L. 1978. *Chemistry for Environmental Engineering*, 3rd ed. McGraw-Hill Inc, USA.
- Schaafsma**, J.A., Baldwin, A.H. y Streb, C.A. 2000. An evaluation of a constructed wetland to treat wastewater from a dairy farm in Maryland, USA. *Ecological Engineering* 14, 199–206.
- Schierup**, H.H. y Larsen, V.J. 1981. Macrophyte cycling of zinc, copper, lead and cadmium in the littoral zone of a polluted and a non-polluted lake. I. Availability, uptake and translocation of heavy metals in *Phragmites australis* (Cav.) Trin. *Aquatic Botany* 11, 197–210.
- Schwitzguébel**, J.P. 2001. Hype of hope: the potential of phytoremediation as an emerging green technology. *Remediation* 11(4), 63-78.
- Schwitzguébel**, J.P., Van der Lelie, D., Baker, A., Glass, D.J. y Vangronsveld, J. 2002a. Phytoremediation: European and American trends, successes, obstacles and needs. *Journal of Soils and Sediments* 2(2), 91-99.
- Schwitzguébel**, J.P., Aubert, S., Grosse, W. y Larnus, F. 2002b. Sulphonated aromatic pollutants. Limits of microbial degradability and potential of phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research* 9, 62-72.
- Schwitzguébel**, J.P. 2004. Potential of phytoremediation, an emerging green technology: European trends and outlook. *Proceedings of the Indian National Science Academy B* 70, 131-152.
- Schwitzguébel**, J.P., Nehnevajova, E., Federer G. y Herzig R. 2005. Metal accumulation and metabolism in higher plants: potential for phytoremediation. Chapter 23 in: *Trends in*.

- Scotford**, J.M., Cumby, T.R., White, R.P., Carton, O.T., Lorenz, F., Hatterman, U. y Provolo, G. 1998a. Estimation of the nutrient value of agricultural slurries by measurement of physical and chemical properties. *Journal of Agricultural Engineering Research* 71, 291–305.
- Scotford**, J.M., Cumby, T.R., Han, L. y Richards, P.A. 1998b. Development of a prototype nutrient sensing system for livestock slurries. *Journal of Agricultural Engineering Research* 69, 217–228.
- Sculthorpe**, C.D. 1967. *The biology of aquatic vascular plants*. Edward Arnold, London 610 pp.
- Sheoran**, A.S. y Sheoran, V. 2006. Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: a critical review. *Minerals Engineering* 19, 105–116.
- Shipin**, O. Koottatep, T. Khanh, N.T.T. y Polprasert, C. 2005. Integrated natural treatment systems for developing communities: low-tech N-removal through the fluctuating microbial pathways. *Water Science and Technology* 51, 299–306.
- Simpson**, K. 1991. *Abonos y estiércoles*. Editorial Acibia, Zaragoza, 286 pp.
- Sindilariu**, P.D., Wolter, C. y Reiter R. 2008. Constructed wetlands as a treatment method for effluents from intensive trout farms. *Aquaculture* 277, 179–184.
- Skarda**, S.M., Moore, J.A., Niswander, S.F. y Gamroth, M.J. 1994. Preliminary results of wetland for treatment of dairy farm wastewater. In: DuBow, P.J., Reaves, R.P. (Eds.), *Constructed wetlands for animal waste management*. Proceedings of workshop, 4–6 April 1994. Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA, pp. 34–42.
- Skiba**, U., Smith, K.A. y Fowler, D. 1993. Nitrification and denitrification as sources of nitric oxide 400 and nitrous oxide in a sandy loam soil. *Soil, Biology and Biochemistry* 25, 152–156.
- Smith**, K.A., Nicholson, R.J., Williams, J.R. y Chambers, B.J. 1993. A review of rapid methods for assessing the nutrient content of organic manures. ADAS Report to MAFF Environmental Protection Division. Project No. WA 0605.
- Snoeyink**, V.L. y Jenkins, D. 1980. *Water Chemistry*. Wiley (Ed.), New York.
- Soliva**, M. 1977. Purins: Un adob o un problema (resum). Seminari: La gestió dels purins a les explotacions ramaderes, [Granollers, mayo de 1977]. 3 p.
- Sorkhoh**, N.A., Al-Hasan, R.H., Khanafer, M. y Radwan, S.S. 1995. Establishment of oil-degrading bacteria associated with cyanobacteria in oil-polluted soil. *Journal of Applied Bacteriology* 78, 194–199.
- Soto**, F., García, M., de Luis, E. y Becares, E., 1999. Role of *Scirpus lacustris* in bacterial and nutrient removal from wastewater. *Water Science and Technology* 40, 241–247.
- Soudek**, P., Tykva, R. y Vanek, T. 2004. Laboratory analyses of ¹³⁷Cs uptake by sunflower, reed and poplar. *Chemosphere* 55, 1081–1087.
- Spangler**, F., Sloey, W. y Fetter, C.W. 1976. Experimental use of emergent vegetation for the biological treatment of municipal wastewater in Wisconsin. En: J. Tourbier, R. W. Pierson (Eds.), *Biological control of water pollution*. University of Pennsylvania, Pennsylvania, USA, pp. 161–71
- Spieles**, D.J. y Mitsch, W.J. 2000. The effects of season and hydrologic and chemical loading on nitrate retention in constructed wetlands: a comparison of low- and high-nutrient riverine systems. *Ecological Engineering* 14, 77–91.
- Spiers**, H.M. 1961. *Technical Data on Fuel*. The British National Committee. World Power Conference 210. Grand Buildings, Trafalgar Square, London C2. 6th edition.
- Srinivasan**, N., Weaver, R.W., Lesikar, B.J. y Persyn, R.A. 2000. Improvement of domestic wastewater quality by subsurface flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 75, 19–25.
- Stal**, L.J. y Caumette, P. 1994. *Microbial mats: structure, development and environmental significance*. NATO ASI Series, 35, Springer-Verlag, Berlin, 463 pp.
- Steer**, D., Fraser, D.L., Boddy, J. y Seibert, B. 2002. Efficiency of small constructed wetlands for subsurface treatment of single-family domestic effluent. *Ecological Engineering* 18, 429–440.
- Steinmann**, C.R., Weinhart, S. y Melzer, A., 2003. A combined system of lagoon and constructed wetland for an effective treatment. *Water Research* 37, 2035–2042.
- Stevens**, R.J., OBrice, C.J. y Carton, O.T. 1995. Estimating nutrient content of animal slurries using electrical conductivity. *Journal of Agricultural Science* 125, 233–238.
- Stevenson**, F.J. 1994. *Humus chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley & Sons, New York, USA.
- Strous**, M., Fuerst, J.A., Kramer, E.H.M., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K.T., Webb, R., Kuenen, J.G. y Jetten, M.S.M., 1999. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature* 400, 446–449.

- Sun, G., Gray, K.R. y Biddlestone, A.J.** 1998. Treatment of agricultural and domestic effluents in constructed downflow reed beds employing recirculation. *Environmental Technology* 19, 529–536.
- Sun, G., Gray, K.R., Biddlestone, A.J., Allen, S.J. y Cooper, D.J.,** 2003. Effect of effluent recirculation on the performance of a reed bed system treating agricultural wastewater. *Process Biochemistry* 39, 351–357.
- Sun, G., Zhao, Y. y Allen, S.** 2005. Enhanced removal of organic matter and ammoniacal-nitrogen in a column experiment of tidal flow constructed wetland system. *Journal of Biotechnology* 115, 189–197.
- Sun, G. y Austin D.** 2007. Completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite in lab-scale constructed wetlands: Evidence from a mass balance study. *Chemosphere* 68, 1120–1128.
- Sundaravadivel, M. y Vigneswaran, S.** 2001. Constructed wetlands for wastewater treatment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 31, 351–409.
- Sunyer Martín, R.** 2002. Mejoras en el procedimiento biológico de depuración de purines de cerdo. Patente: ES 2 157 774 B1.
- Suresh, A., Choi, H.L., Ohb, D.I. y Moon, O.K.** 2009. Prediction of the nutrients value and biochemical characteristics of swine slurry by measurement of EC – Electrical conductivity. *Bioresource Technology* 100, 4683–4689.
- Susarla, S., Medina, V.F. y McCutcheon, S.C.,** 2002. Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering* 18, 647–658.
- Swanson, H.A. y Baldwin, H.L.** 1965. *A Primer on Water Quality*, de Encuesta Geológica de los Estados Unidos.
- Tam, N.F.Y. y Wong, Y.S.** 1999. Mangrove soils in removing pollutants from municipal wastewater of different salinities. *Journal of Environmental Quality* 28, 556–564.
- Tam, N.F.Y. y Wong, Y.S.** 1996. Retention and distribution of heavy metals in mangrove soils receiving wastewater, *Environmental Pollution* 94, 283–291.
- Tamayo, R.** 2002. Descontaminando al natural” Suplemento Científico-Técnico en Red en www.jrebelde.cu/enred/descontaminando.html
- Tanner, C.C., Clayton J.S. y Upsdell M.P.** 1995a. Effect of loading rate and planting on treatment of dairy farm wastewaters in constructed wetlands-I. Removal of oxygen demand, suspended solids and faecal coliforms. *Water Research* 29, 17-26.
- Tanner, C.C., Clayton, J.S. y Upsdell, M.P.** 1995b. Effect of loading rate and planting on treatment of dairy farm wastewaters in constructed wetlands II. Removal of nitrogen and phosphorus. *Water Research* 29, 27-34.
- Tanner, C.C.** 1996. Plants for constructed wetland treatment systems - A comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Ecological Engineering* 7, 59-83.
- Tanner, C.C., Sukias, J.P.S. y Upsdell, MP.** 1998. Organic matter accumulation during maturation of gravel-bed constructed wetlands treating farm dairy wastewaters. *Water Research* 32, 3046-3054.
- Tanner, C.C.** 2001. Growth and nutrient dynamics of soft-stem bulrush in constructed wetlands treating nutrient-rich wastewater. *Wetlands Ecology and Management* 9, 49–73.
- Tanner, C.C., Kadlec, R.H., Gibbs, M.M., Sukias, J.P.S. y Nguyen, M.L.** 2002. Nitrogen processing gradients in subsurface-flow treatment wetlands - Influence of wastewater characteristics. *Ecological Engineering* 18, 499–520.
- Teira, M. R., Babot, D., Bernet, J. A., Pasques, A., Chávez, E., Ubach, N., Sabaté, J., Bonmatí, A., Magrí, A., Danés, R., Boixadera, J., Villar, J. M., Cantero, C., Lloberas, J., Santiverí, F., Berenguer, P., Domingo, F., Teixidor, N., Serra, J., Pagès, J.M., Bosch, A., Gil E., y Gracia, F.** 2006. Informe para la mejora de la gestión de los purines porcinos en Cataluña. Generalitat de Catalunya Consell Assessor per al Desenvolupament Sostenible. 229 pp. www.gencat.net/darp/c/ramader/dejecram/dejec10.htm.
- Tele Atlas Google.** Data SIO, NOAA U.S. Navy. NGA GEBCO, 2010. <https://maps.google.com/>
- ten Have, P.J.W., Willers, H.C. y Derikx, P.J.L.** 1994. Nitrification and denitrification in an activated sludge system for supernatant from settled sow manure with molasses as an extra carbon source. *Bioresource Technology* 47, 135–141.
- Terry, T.B.III.** 1993. Constructed wetlands wastewater quality improvement at Lynnvale elementary school. In: Moshiri, G.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 535–540.
- Terzakis, S., Fountoulakis, M.S., Georgaki, I., Albantakis, D., Sabathianakis, I., Karathanasis, A.D., Kalogerakis, N. y Manios, T.** 2008. Constructed wetlands treating highway runoff in the central Mediterranean region. *Chemosphere* 72, 141–149.

- Thibaudeau**, S. 1997. Fumier solid ou liquide. quelle est la difference?. En: soil/Fumier n° 18: 32-5.
- Thomas**, P.R., Glover, P. y Kalaroopan, T. 1995. An evaluation of pollutant removal from secondary treated sewage effluent using a constructed wetland system. *Water Science and Technology* 32, 87–93.
- Thullen**, J.S., Sartoris, J.J. y Walton, W.E. 2002. Effects of vegetation management in constructed wetland treatment cells on water quality and mosquito production. *Ecological Engineering* 18, 441–457.
- Toet**, S., Van Logtestijn, R.S.P., Kampf, R., Schreijer, M. y Verhoeven, J.T.A. 2005. The effect of hydraulic retention time on the removal of pollutants from sewage treatment plant effluent in a surface-flow wetland system. *Wetlands* 25, 375–391.
- Tofant**, A., Vucemilo M., Pavicic´ Z. y Milic´ D. 2006. The hydrogen peroxide, as a potentially useful slurry disinfectant. *Livestock Science* 102, 243– 247.
- Torrens**, A., Molle, P., Boutin, C. y Salgot, M. 2009. Impact of design and operation variables on the performance of vertical-flow constructed wetlands and intermittent sand filters treating pond effluent. *Water Research*, 43, 1851-1858.
- Tsihrintzis**, V.A., Akratos, C.S., Gikas, G.D., Karamouzis, D. y Angelakis, A.N., 2007. Performance and cost comparison of a FWS and a VSF constructed wetland system. *Environmental Technology* 28, 621–8.
- Tunney**, H. 1979. Dry matter, specific gravity, and nutrient relationships of cattle and pig slurry. In: *Engineering Problems with Effluents from Livestock* (Hawkins J.C., ed.), pp 430–447. EEC, Luxembourg.
- Turzo**, P.E. 1998. Gestión de excretas ganaderas, factores a tener en cuenta. *Producción Animal*. Marzo, 18-26.
- UNE-EN 1899-1 y 1899-2**. Normas de Calidad del agua. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno después de n días (DBOn), 1998.
- UNE-EN 77047**: Normas de Calidad del agua. Determinación de fósforo total por espectrofotometría UV- VIS, (método del ácido ascórbico) , 1983.
- USEPA**. 1991. Design manual. Constructed wetlands and aquatic plant systems for municipal wastewater treatment. Office of Research and Development, Center for Environmental Research Information, Cincinnati, OH.
- van Loodrecht**, M.C.M. y Jetten, M.S.M. 1998. Microbiological conversions in nitrogen removal. *Water Science and Technology* 38(1), 1–7.
- Vandecasteele**, B., Meers, M., Vervaeke, P., De Vos, B., Quataert, P. y Tack, F.M.G. 2005. Growth and trace metal accumulation of two *Salix* clones on sediment-derived soils with increasing contamination levels. *Chemosphere*. 58, 995– 1002.
- Vanotti**, M.B. y Hunt P.G. 1999. Solids and nutrient removal from flushed swine manure using polyacrylamides. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* 42(6), 1833–1840.
- Vanotti**, M.B. y Hunt P.G. 2001. Depuración, gestión sostenible y revalorización de purines: Problemas y soluciones en EE.UU. *Rev. Porci*. 65, 67-83.
- Vanotti**, M.B., Rashash, D.M.C y Hunt, P.G. 2002. Solid–liquid separation of flushed swine manure with PAM: effect of wastewater strength. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* 45(6), 1959–1969.
- Verhoeven**, J.T.A. y Meuleman, A.F.M., 1999. Wetlands for wastewater treatment: opportunities and limitations. *Ecological Engineering* 12, 5-12.
- Vetter**, H. y Steffens G. 1986. Economical use of slurry on arable land without causing damages on soil, water and plants and with small odour emissions. En: *Selected scientific papers from the Fifth Consultation of the FAO Cooperative Network on Animal Waste Utilization*. Burgos. España pp: 99-117.
- Vonshak**, A. 1997. Outdoor mass production of *Spirulina*: the basic concept. In: Vonshak, A. (Ed.), *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology. Taylor and Francis, pp. 79–99.
- Voorburg**, J.H. 1991 Utilisation of animal manure to avoid pollution. *The Fertiliser Society* 304, 1-16.
- Vossoughi**, M., Alemzadeh I. y Manshoori M. 2005. Evaluación del funcionamiento de humedales artificiales piloto para el tratamiento de aguas residuales industriales. Pp. 121-127.
- Vranck en**, K. Lemmens, B. y Vanassche, S. 2006. BAT for Manure processing. Technical Workshop on Manure Processing. Brussels, 6-7 November. Organized by European Commission, DG-Environment and WUR. En: <http://forum.europa.eu.int/Public/irc/env/manure_processing/home> [Consulta: 18 de noviembre de 2006].
- Vymazal**, J. 1996. The use of subsurface-flow constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic. *Ecological Engineering* 7, 1-14.

- Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P.F., Haberl, R., Perfler, R. y Laber, J.** 1998a. Removal mechanisms and types of constructed wetlands. In *Constructed Wetlands for Waste- water Treatment in Europe* eds J. Vymazal, H. Brix, P. Cooper, M. B. Green and R. Haberl, pp. 17-66. Back- huys Publisher, Leiden, The Netherlands.
- Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P.F., Green, M.B. y Haberl, R. (Eds.).** 1998b. *Constructed Wetlands for Wastewater Treatment in Europe*. Backhuys Publishers, Leiden.
- Vymazal, J.** 1999. Nitrogen removal in constructed wetlands with horizontal sub-surface flow—can we determine the key process? In: Vymazal J. (Ed.), *Nutrient Cycling and Retention in Natural and Constructed Wetlands*. Backhuys Publishers, Leiden, pp 1–17
- Vymazal, J.,** 2002. The use of sub-surface constructed wetlands for wastewater treatment in the Czech Republic: 10 years' experience. *Ecological Engineering* 18, 633–646.
- Vymazal, J.** 2005. Horizontal sub-surface flow and hybrid constructed wetland systems for wastewater treatment. *Ecological Engineering* 25, 478–490.
- Vymazal, J.** 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 380, 48–65.
- Vymazal, J.** 2009a. Horizontal sub-surface flow constructed wetlands Ondřejov and Špařlené Porůčice in the Czech Republic – 15 years of operation. *Desalination* 246, 226–237.
- Vymazal, J., Krořpelová, L., Švehla, J., Chrástný, V. y Štícha, J.** 2009b. Trace elements in *Phragmites australis* growing in constructed wetlands for treatment of municipal wastewater. *Ecological Engineering* 35, 303–309.
- Vymazal, J.** 2009c. The use constructed wetlands with horizontal sub-surface flow for various types of wastewater. *Ecological Engineering* 35, 1–17.
- Vymazal, J.** 2011. Long-term performance of constructed wetlands with horizontal sub-surface flow: Ten case studies from the Czech Republic. *Ecological Engineering* 37, 54–63.
- Walker, Jr. W.W.** 1995. Design basis for Everglades Stormwater Treatment Areas. *Water Resources Bulletin* 31, 671–685.
- Walker, P.M. y Kelley T.R.** 2003. Solids, organic load and nutrient concentration reductions in swine waste slurry using a polyacrylamide (PAM) – aided solids flocculation treatment. *Bioresource Technology* 90, 151–158.
- Walker, P.M., Wade C.A. y Kelley T.R.** 2010. Evaluation of a polyacrylamide assisted solid/liquid separation system for the treatment of liquid pig manure. *Biosystems engineering* 105, 241–246.
- Wallace, S.D. y Knight, R.L.** 2006. Small-scale constructed wetland treatment systems. In: *Water Environment Research Foundation. IWA Publishing, London, UK.*
- Wang, J., Burken, J.G. y Zhang, X.,** 2006. Effect of seeding materials and mixing strength on struvite precipitation. *Water Environment Research* 78, 125– 132.
- Wang, X., Dossett, M.P., Gordon, M.P. y Strand, S.E.** 2004. Fate of carbon tetrachloride during phytoremediation with poplar under controlled field conditions. *Environmental Science and Technology* 38, 5744–5749.
- Wang, Y.H., Inamori, R., Kong, H.N., Xu, K.Q., Inamori, Y., Kondo, T. y Zhang, J.X.** 2008. Nitrous oxide emission from polyculture constructed wetlands: effect of plant species. *Environmental Pollution* 152, 351–360.
- Wathugala, A. G., Suzuki T. y Kurihara, Y.** 1987. Removal of nitrogen, phosphorus and COD from waste water using sand filtration system with *Phragmites australis*. *Water Research* 21, 1217-1224.
- Watson, J.T., Diodato, F.D. y Lauch, M.** 1987. Design and performance of the artificial wetlands wastewater treatment plant at Iselin, Pennsylvania. In: Reddy, K.R., Smith, W.H. (Eds.), *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Magnolia Publishing Inc, Orlando, FL, pp. 263–270.
- Watson, J.T., Reed, S.C., Kadlec, R.H., Knight, R.L. y Whitehouse, A.E.** 1989. Performance expectations and loading rates for constructed wetlands. In: Hammer, D.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Waste Water Treatment*. Lewis Publishers, Chelsea, MI, pp. 319–351.
- Watson, J.T. y Danzig, A.J.** 1993. Pilot-scale nitrification studies using vertical-flow and shallow horizontal-flow constructed wetlands. In: Moshiri, G.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 301–313.
- Watson, R.T., Zinyowera, M.C., Moss, R.H. y Dokken, D.J.** 1996. *Climate Change 1995, Impacts, Adaptations and Mitigation of Climate Change: Scientific- Technical Analyses*, Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, USA, p. 879.
- Weaver, J.E. y Clements, F.E.** 1938. *Plant ecology*. Second edition. McGraw-Hill, New York.

- Wen, Y., Chen, Y., Zheng, N., Yang, D. y Zhou, Q. 2010. Effects of plant biomass on nitrate removal and transformation of carbon sources in subsurface-flow constructed wetlands. *Bioresource Technology* 101, 7286–7292.
- Werblan, D., Smith, R.J., Van der Va k, A.G. y Davis, C.B. 1978. Treatment of waste from a confined hog feeding unit by using artificial marshes. En: H. L. Mickim (Ed.). *Proceedings of international symposium on land treatment of wastewater* Aug. 1978, Hannover, New Hampshire, USA, pp. 1-13
- Westerman, P.W. y Bicudo J.R. 2002. Application of mixed and aerated pond for nitrification and denitrification of flushed swine manure. *Applied Engineering in Agriculture*, 18(3), 351–358
- WetPol, 2007. Second International Symposium on Wetland Pollutant Dynamics and Control. Mander, Ü, Koiv, M., Vohla, C. (Eds.), *Extended Abstracts*, vols. 1 and 2, September 16–20, Tartu, Estonia, 565 pp.
- Wiessner, A., Kappelmeyer, U., Kusch, P. y Kästner, M. 2005. Influence of the redox condition dynamics on the removal efficiency of a laboratory-scale constructed wetland. *Water Research* 39, 248–256.
- Wilkie, A.C. y Mulbry, W.W., 2002. Recovery of dairy manure nutrients by benthic freshwater algae. *Bioresource Technology* 84, 81–91.
- Willers, H.C., Derikx, P.J.L., ten Have P.J.W. y Vijn T.K. 1998. Nitrification limitation in animal slurries at high temperatures. *Bioresource Technology* 64, 47-54.
- Williams, J.B., May, E., Ford, M.G. y Butler, J.E. 1994. Nitrogen transformations in gravel bed hydroponic beds used as a tertiary treatment stage for sewage effluents. *Water Science and Technology* 29, 29–36.
- Williams, P.H., Jarvis, S.C. y Dixon, E. 1998. Emission of nitric oxide and nitrous oxide from soil under field and laboratory conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1885–1893.
- Wind, T. y Conrad, R., 1997. Localization of sulphate reduction in planted and unplanted rice field soil. *Biogeochemistry* 37, 253–278.
- Windham, L., Weis, J.S. y Weis, P. 2003. Uptake and distribution of metals in two dominant salt marsh macrophytes, *Spartina alterniflora* (cordgrass) and *Phragmites australis* (common reed). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 56, 63–72.
- Windham, L., Weis, J.S. y Weis, P. 2004. Metal dynamics of plant litter of *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis* in metal-contaminated salt marshes. Part 1: patterns of decomposition and metal uptake. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23, 1520–1528.
- Winter, M. y Kickuth, R. 1989. Elimination of sulphur compounds from wastewater by the root zone process—II. Mode of formation of sulphur deposits. *Water Research* 23(5), 547–560.
- Wolverton, B.C. 1982. Hybrid wastewater treatment system using anaerobic microorganisms and reed (*Phragmites communis*). *Economic Botanic* 36, 373-80.
- Wolverton, B.C. 1987. Artificial marshes for wastewater treatment. In: Reddy, K.R., Smith, W.H. (Eds.), *Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery*. Magnolia Publishing Inc, Orlando, FL, pp. 141–152.
- Wong, T.H.F., Breen, P.F., Lloyd, S., Walker, T., Dahnke, B. y Wootton, R. 2000. Suspended solids removal in stormwater wetlands, quantifying the role of aquatic macrophytes. In: Reddy, K.R., Kadlec, R.H. (Eds.), *Proceedings of the Seventh International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control*, vol. II. International Water Association, Lake Buena Vista, FL, 1545–1552.
- Wong, T.H.F., Fletcher, T.D., Duncan, H.P. y Jenkins, G.A. 2006. Modelling urban stormwater treatment—a unified approach. *Ecological Engineering* 27, 58–70.
- Wong, J.W.C. y Selvam, A. 2009. Reduction of indicator and pathogenic microorganisms in pig manure through fly ash and lime addition during a saline stabilization. *Journal of Hazardous Materials* 169, 882–889.
- WPCF, Water Pollution Control Federation, 1990. *Natural systems for wastewater treatment. Manual of Practice FD-16*. Water Environment Federation, Alexandria, VA, 270.
- www.coloidales.iimdo.com
- www.textbookofbacteriology.net
- Xinshan, S., Qin, L. y Denghua, Y. 2010. Nutrient Removal by Hybrid Subsurface Flow Constructed Wetlands for High Concentration Ammonia Nitrogen Wastewater. *Procedia Environmental Sciences* 2, 1461–1468.
- Yan, G.A., Jiang, J.W., Wu, G. y Yan, X. 1998. Disappearance of linear alkylbenzene sulfonate from different cultures with *Anabaena* sp. HB 1017. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 60: 329-334.
- Yang, L., Chang, H.T. y Huang, M.N.L., 2001. Nutrient removal in gravel and soil based wetland microcosms with and without vegetation. *Ecological Engineering* 18, 91–105.

- Ye, Z.H., Baker, A.J.M., Wong, M.H. y Willis, A.J.** 1997. Zinc, lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by common reed *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex Steudel. *Annals of Botany* 82, 83–87.
- Yeh, T.Y., Chou, C.C. y Pan C.T.** 2009. Heavy metal removal within pilot-scale constructed wetlands receiving river water contaminated by confined swine operations. *Desalination* 249, 368–373.
- Yetilmezsoy, K. y Sapci-Zengin, Z.** 2009. Recovery of ammonium nitrogen from the effluent of UASB treating poultry manure wastewater by MAP precipitation as a slow release fertilizer. *Journal of Hazardous Materials* 166(1), 260–269.
- Zanuzzi, A., Arocena, J.M., van Mourik, J.M. y Faz Cano A.** 2009. Amendments with organic and industrial wastes stimulate soil formation in mine tailings as revealed by micromorphology. *Geoderma*, 154, 1–2, 15, 69–75.
- Zhang, R.H. y Westerman, P.W.,** 1997. Solid-liquid separation of animal manure for odor control and nutrient management. *Applied Engineering in Agriculture* 13, 657–664.
- Zhang, R.H. y Lei F.** 1998. Chemical treatment of animal manure for solids–liquids separation. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 41(4), 1103–1108.
- Zhang, C.B., Wang, J., Liu, W.L., Zhu, S.X., Ge, H.L., Chang, S.X., Chang, J. y Ge, Y.** 2010. Effects of plant diversity on microbial biomass and community metabolic profiles in a full-scale constructed wetland. *Ecological Engineering* 36, 62–68.
- Zhao, Y.Q., Sun, G. y Allen, S.J.** 2004. Anti-sized reed bed system for animal wastewater treatment: a comparative study. *Water Research* 38, 2907–2917.
- Zhu, J., Zhang Z. y Miller C.** 2005. Effect of Pig Slurry Solids on Aeration Efficiency and Odour Generation. *Biosystems Engineering* 90(4), 443–450.
- Zhu, T., Jenssen, P.D., Maehlum, T. y Krogstad, T.** 1997. Phosphorous sorption and chemical characteristics of lightweight aggregates (LWA)-potential filter media in treatment wetlands. *Water Science and Technology* 35, 103–108.
- Zimmerman, T.** 1994. Constructed wetlands for mi khouse wastewater treatment. ASAE Presentation. Paper #942000.
- Zimno, O.R., van der Steen, N.P. y Gijzen, H.J.** 2003. Comparison of ammonia volatilisation rates in algae and duckweed-based waste stabilisation ponds treating domestic wastewater. *Water Research* 37, 4587–4594.
- Zornoza, R., Faz, A., Carmona, D.M., Acosta, J.A., Martínez-Martínez, S. y Arno de Vreng.** 2013. Carbon mineralization, microbial activity and metal dynamics in tailing ponds amended with pig slurry and marble waste. *Chemosphere* 90(10), 2606–2613.
- Zornoza, R., Faz, A., Carmona, D.M., Martínez-Martínez, S. y Acosta, J.A.** 2012. Plant Cover and Soil Biochemical Properties in a Mine Tailing Pond Five Years After Application of Marble Wastes and Organic Amendments. *Pedosphere* 22(1), 22–32.
- Zurita, F., De Anda, J. y Belmont, M.A.** 2009. Treatment of domestic wastewater and production of commercial flowers in vertical and horizontal subsurface-flow constructed wetlands. *Ecological Engineering* 35, 861–869.

VII. ANEXO FOTOGRÁFICO.



Fotos VII.1 y 2. Conservación de muestras en frigoríficos.



Fotos VII.3 y 4. Equipo portátil HANNA Instrument modelo HI 9025. Medida de T, pH, Eh y CE en campo.



Fotos VII.5-10. Medida de STS. Bomba a vacío Vacuum Brand, balanza analítica modelo 4101, filtro Whatman 934-AH (0,45 µm), embudo Büchner, matraces Erlenmeyer, vidrios de reloj, estufa de secado y desecador.



Fotos VII.11 y 12. Medida SS en campo. Conos Imhoff.



Fotos VII.13 y 14. Medida de DBO₅. Botellas, encabezado e incubador.



Fotos VII.15 y 16. Medida de DQO, PT y NO₃⁻. Test nanocolor, termorreactor y fotómetro PF-11-Macherey- Nagel MN.



Foto VII.17. Destilador de agua.



Foto VII.18. Equipo de agua MilliQ.



Fotos VII.19 y 20. Reactivos y material de laboratorio.



Foto VII.21. Espectrofotómetro de absorción atómica de llama Modelo A-Analyst. Perkin Elmer.



Foto VII.22. Digestor de tubos Kjeldahl.



Foto VII.23. Termostato del digestor Kjeldahl.



Foto VII.24. Destilador de nitrógeno Büchi.



Foto VII.25. Preparación de muestras en tubos Kjeldahl.



Foto VII.26. Valorador Metrohm de nitrógeno.



Foto VII.27. Cromatógrafo iónico Metrohm.



Foto VII.28 Placas Petri y tubos de caldo BGBL.



Foto VII.29. Autoclave.



Fotos VII.30 y 31. Laboratorio de microbiología.

